



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0049804

(51)^{2020.01} C12Q 1/68; C12M 1/34

(13) B

(21) 1-2021-08023

(22) 14/08/2019

(86) PCT/CN2019/100629 14/08/2019

(87) WO2021/026828 18/02/2021

(45) 25/08/2025 449

(43) 25/04/2022 409A

(73) BGI GENOMICS CO., LTD. (CN)

Floors 7-14, Building No. 7, BGI Park, No. 21 Hongan 3rd Street, Yantian District,
Shenzhen, Guangdong 518083, China

(72) CHEN, Ruoyan (CN); JIN, Xin (CN); JU, Jia (CN); LIU, Siyang (CN).

(74) Công ty TNHH Sở hữu trí tuệ Thảo Thọ Quyền (INVENCO.,LTD)

(54) PHƯƠNG PHÁP VÀ THIẾT BỊ ĐỂ XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ AXIT NUCLEIC
THAI NHI TRONG HUYẾT TƯƠNG MẸ

(21) 1-2021-08023

(57) Sáng chế đề xuất phương pháp và thiết bị để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu người mẹ. Phương pháp này bao gồm: (1) xác định thông tin genotyp thứ nhất dựa trên sự cân chỉnh giữa dữ liệu phân tích trình tự và ít nhất một phần của hệ gen tham chiếu, dữ liệu phân tích trình tự được bắt nguồn từ mẫu axit nucleic của máu mẹ; (2) hiệu chỉnh thông tin genotyp thứ nhất dựa trên dữ liệu tham chiếu bằng cách sử dụng mối quan hệ mất cân bằng liên kết, để thu được thông tin genotyp thứ hai; và (3) xác định nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên sự khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai.

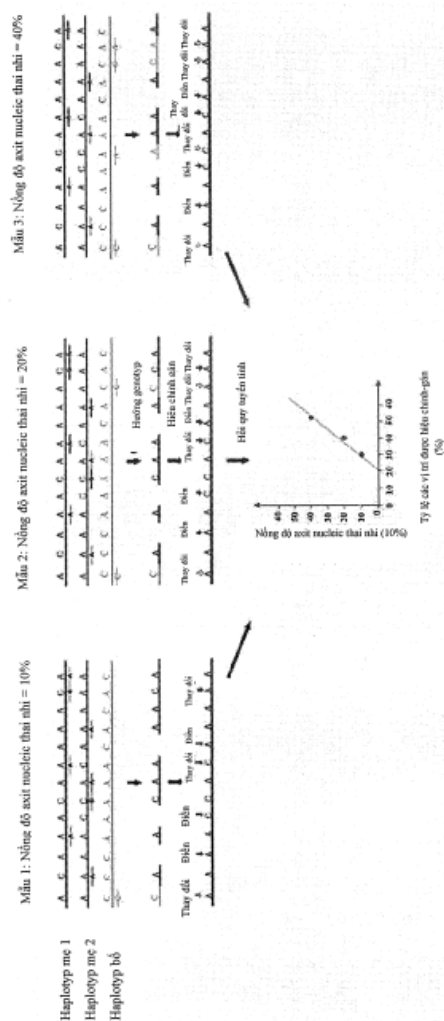


FIG. 3

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế liên quan đến lĩnh vực phát hiện gen, và cụ thể là, đến phương pháp và thiết bị để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu người mẹ.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Vì sự khám phá ra ADN tự do tế bào thai nhi trong huyết tương mẹ vào năm 1997, xét nghiệm trước sinh không xâm lấn (noninvasive prenatal testing-NIPT), mà có thể thu được thông tin ADN thai nhi bằng cách chiết ADN tự do tế bào (cell-free DNA-cfDNA) tuần hoàn từ huyết tương người mẹ, đã tạo ra sự tiến triển lớn. Đã được khẳng định rằng nồng độ của cfDNA thai nhi trong cfDNA huyết tương mẹ gia tăng với sự gia tăng của tuổi thai trong máu được lấy ra, và cũng thay đổi với từng phụ nữ mang thai khác nhau. Việc ước tính chính xác nồng độ của cfDNA thai nhi trong cfDNA huyết tương mẹ không chỉ giúp tăng cường độ chính xác của NIPT, mà còn giúp dễ dàng nghiên cứu tác động ảnh hưởng của nó đối với các biến chứng thai kỳ khác nhau và phenotyp mẹ.

Nhiều tổ chức đã liên tiếp đề xuất các phương pháp để ước tính nồng độ axit nucleic thai nhi thông qua dữ liệu và phương pháp khác nhau. Các phương pháp này có thể được phân loại thành sáu loại: 1) phương pháp tính toán dựa trên độ sâu nhiễm sắc thể Y, để tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên nguyên tắc rằng các chỉ số phân tích trình tự cfDNA có nguồn gốc từ phụ nữ mang thai trong huyết tương không thể được lập bản đồ cho vùng không tương đồng của nhiễm sắc thể Y của hệ gen tham chiếu người, và các chỉ số mà có thể được lập bản đồ duy nhất cho vùng không tương đồng của nhiễm sắc thể Y của hệ gen tham chiếu người tất cả được bắt nguồn từ

cfDNA của thai nhi bé trai; 2) phương pháp tính toán đa hình một nucleotit (single nucleotide polymorphism-SNP) được hỗ trợ bằng cách lấy dữ liệu phân tích trình tự, mà sử dụng các vị trí đồng hợp tử nhưng khác với hệ gen của cha và mẹ và kết hợp các chỉ số thông tin độ sâu của huyết tương mẹ để tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi; 3) phương pháp tính toán phân phối độ sâu chỉ số phân tích trình tự, mà chia hệ gen thành các cửa sổ (ví dụ, 50kb), tính toán tổng số các chỉ số của cfDNA trong huyết tương mẹ và tỷ lệ của các chỉ số ngắn trong mỗi cửa sổ, sử dụng các kết quả tính toán làm dữ liệu đầu vào để thiết lập mô hình hồi quy, uốn chỉnh mô hình này bằng nồng độ cfDNA thai nhi được tính toán bằng độ sâu nhiễm sắc thể Y làm bộ đúng, và sử dụng dữ liệu của cỡ mẫu siêu lớn, và sau đó phát hiện nồng độ cfDNA thai nhi sử dụng mô hình uốn chỉnh này; 4) phương pháp tính toán hỗ trợ dữ liệu methyl hóa, trong đó sự tính toán được dựa trên các sự khác biệt về sự methyl hóa của ADN có nguồn gốc từ các cá thể khác nhau hoặc từ các mô khác nhau của cùng một cá thể; 5) phương pháp tính toán độ dài đoạn cfDNA, để ước tính nồng độ của cfDNA thai nhi bằng cách tính toán tỷ lệ của các đoạn cfDNA trong cơ thể của phụ nữ mang thai dựa trên thực tế đã biết rằng chiều dài của các đoạn cfDNA thai nhi trong huyết tương mẹ có sự phân bố tỷ lệ lớn hơn nằm trong khoảng từ 147bp đến 167bp, và chiều dài cfDNA của phụ nữ mang thai thường phân bố trong khoảng từ 167bp đến 187bp; và 6) phương pháp tính toán sắp xếp nucleosom, để ước tính nồng độ của cfDNA thai nhi dựa trên sự khác biệt về sự phân bố chiều dài đoạn của cfDNA phụ nữ mang thai và cfDNA thai nhi gây ra các mức thoái hóa khác nhau. Trong số sáu phương pháp, chỉ các phương pháp 1), 3) và 6) có thể tính toán nồng độ cfDNA thai nhi chỉ dựa trên dữ liệu NIPT, phương pháp 1) bị giới hạn đến sự tính toán đặc hiệu cho thai nhi bé trai, và các phương pháp 3) và 6) có thể chỉ được sử dụng để tính toán dữ liệu NIPT với độ sâu cao hơn.

Hiện nay, không có phương pháp nào có khả năng tính toán nồng độ cfDN cho cả hai không phân biệt thai nhi bé trai và bé gái dựa trên dữ liệu NIPT độ sâu siêu thấp.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Sáng chế nhằm giải quyết một trong số các vấn đề kỹ thuật trong lĩnh vực liên quan ít

nhất đến mức độ nhất định. Về mặt này, đối tượng của sáng chế là đề xuất phương pháp và thiết bị để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong huyết tương mẹ.

Trong khoảng thời gian nghiên cứu dài, người nộp đơn đã có các phát hiện sau.

Đối với các phương pháp hiện có để tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi, khi phát hiện nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu phụ nữ mang thai, các loại dữ liệu khác ngoài dữ liệu NIPT của huyết tương máu của phụ nữ mang thai cần để trợ giúp trong hầu hết các trường hợp. Trong số chúng, 1) phương pháp tính toán đa hình một nucleotit (SNP) được hỗ trợ bằng cách lấy dữ liệu phân tích trình tự cần cho việc sử dụng dữ liệu phân tích trình tự lấy từ bố mẹ hoặc dữ liệu phân tích trình tự cfDNA độ sâu cao là sự trợ giúp, sự tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi có thể được hoàn thành chỉ dựa trên việc thu bổ sung genotyp thích hợp của bố và mẹ (hoặc ít nhất là mẹ); 2) phương pháp tính toán hỗ trợ dữ liệu methyl hóa cần dữ liệu methyl hóa bổ sung của bố và mẹ để tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi. Các phương pháp này cần loại dữ liệu bổ trợ khác nhau, một mặt làm gia tăng độ khó lấy mẫu (ví dụ, cần thu mẫu máu của bố), và mặt khác, làm tăng chi phí phân tích.

Tuy nhiên, các phương pháp mà chỉ cần dữ liệu NIPT của huyết tương mẹ có yêu cầu thêm về loại dữ liệu NIPT và độ sâu phân tích trình tự. Trong số chúng, 1) phương pháp tính toán chiều dài đoạn cfDNA cần ước tính chính xác chiều dài đoạn cfDNA, và do đó chỉ phân tích trình tự kết thúc ghép cặp (paired-end -PE) có thể được đưa ra; và 2) phương pháp tính toán sự sắp xếp nucleosom cần sử dụng sự khác biệt độ sâu của các chỉ số trong đơn vị nucleosom và do đó có yêu cầu nhất định về độ sâu của phân tích trình tự NIPT, và do đó không thể chỉ sử dụng dữ liệu với độ sâu là khoảng 0,1x mà hiện tại là chung thông thường cho phát hiện NIPT.

Hai phương pháp còn lại, mà không cần dữ liệu bổ sung của các loại khác là sự trợ giúp và không đặc hiệu cho dữ liệu NIPT, cả hai có các giới hạn riêng của nó trong ứng dụng và không thể bao gồm tất cả các mẫu NIPT. Trong số chúng, 1) phương pháp tính toán độ sâu nhiễm sắc thể Y có thể chỉ tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi của thai nhi bé trai, nhưng không thể tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi của thai nhi bé

gái; và 2) phương pháp tính toán sự phân bố độ sâu các chỉ số phân tích trình tự có thể chỉ được sử dụng để ước tính các mẫu có nồng độ axit nucleic thai nhi cao, và không thể áp dụng cho các mẫu có nồng độ axit nucleic thai nhi nhỏ hơn hoặc bằng 5%.

Do đó, vẫn cần thiết cải thiện tiếp phương pháp tính toán nồng độ cfDN của cả hai thai nhi bé trai và bé gái không phân biệt bằng phương tiện dữ liệu NIPT độ sâu thấp. Về mặt này, sáng chế đề xuất phương pháp và thiết bị để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu người mẹ. Phương pháp hoặc thiết bị có thể sử dụng chỉ dữ liệu NIPT của huyết tương mẹ để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi, không cần sự trợ giúp của dữ liệu khác. Ngoài ra, phương pháp hoặc thiết bị có thể được áp dụng cho dữ liệu phân tích trình tự có độ sâu siêu thấp (ví dụ, khoảng 0,1x), và không có các giới hạn đối với loại phân tích trình tự, và cả hai phân tích trình tự kết thúc ghép cặp và phân tích trình tự kết thúc đơn có thể được sử dụng; và phương pháp hoặc thiết bị không đặc hiệu với các loại mẫu, và có khả năng ứng dụng cho cả hai loại mẫu liên quan đến thai nhi bé trai và mẫu liên quan đến thai nhi bé gái.

Cụ thể là, sáng chế đề xuất các giải pháp kỹ thuật sau.

Theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu người mẹ. Phương pháp này bao gồm: (1) xác định thông tin genotyp thứ nhất dựa trên sự căn chỉnh dữ liệu phân tích trình tự với ít nhất một phần hệ gen tham chiếu, dữ liệu phân tích trình tự được bắt nguồn từ mẫu axit nucleic của máu mẹ; (2) hiệu chỉnh thông tin genotyp thứ nhất dựa trên dữ liệu tham chiếu bằng cách sử dụng mối quan hệ mất cân bằng liên kết để thu được thông tin genotyp thứ hai; và (3) xác định nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên sự khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai.

Sáng chế đề xuất phương pháp để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu người mẹ. Trong phương pháp này, thông tin genotyp thứ nhất thu được bằng cách căn chỉnh dữ liệu phân tích trình tự với hệ gen tham chiếu; dữ liệu phân tích trình tự thu được bằng cách phân tích trình tự mẫu axit nucleic của máu mẹ, và dữ liệu phân tích trình tự bao gồm thông tin axit nucleic thai nhi và thông tin axit nucleic mẹ. Dữ

liệu phân tích trình tự cũng gián tiếp bao gồm thông tin axit nucleic bố, vì một phần của thông tin axit nucleic thai nhi được bắt nguồn từ bố. Mỗi quan hệ mất cân bằng liên kết được sử dụng để hiệu chỉnh thông tin genotyp thứ nhất thu được. Nói cách khác, một phần của thông tin axit nucleic có nguồn gốc từ cha mẹ được trộn trong dữ liệu phân tích trình tự, và được bắt nguồn từ cá thể khác từ thông tin mẹ, và do vậy được hiệu chỉnh đến mức độ nhất định để thu được thông tin genotyp thứ hai sau khi hiệu chỉnh. Sau đó, một phần của thông tin genotyp được hiệu chỉnh có thể được xác định bằng sự khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai, và càng nhiều phần của thông tin genotyp được hiệu chỉnh, thì nồng độ cfDNA thai nhi trong huyết tương mẹ càng cao. Nồng độ axit nucleic thai nhi có thể được xác định dựa trên mối quan hệ giữa tỷ lệ của genotyp được hiệu chỉnh và nồng độ cfDNA thai nhi trong huyết tương mẹ.

Phương pháp để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ được đề xuất bởi sáng chế có nhiều lợi ích trong các khía cạnh sau: 1) thông qua phương pháp này, chỉ có dữ liệu NIPT của huyết tương mẹ được sử dụng không cần sự trợ giúp của dữ liệu khác; 2) phương pháp này có thể được áp dụng cho dữ liệu phân tích trình tự có độ sâu siêu thấp (ví dụ, khoảng 0,1x), bởi vì mối quan hệ mất cân bằng liên kết được sử dụng để ước tính các sự thay đổi trong genotyp hệ gen, các sự thay đổi trong genotyp hệ gen có thể phản ánh nồng độ axit nucleic thai nhi miễn là dữ liệu này bắt nguồn từ hai nguồn (phụ nữ mang thai và thai nhi) được trộn, thậm chí nếu độ sâu phân tích trình tự là thấp; 3) phương pháp này không đặc hiệu với loại phân tích trình tự, và cả hai phân tích trình tự kết thúc ghép cặp hoặc phân tích trình tự kết thúc đơn có thể áp dụng; 4) phương pháp này không đặc hiệu với các loại mẫu (cả hai mẫu liên quan đến thai nhi bé trai và mẫu liên quan đến thai nhi bé gái có thể áp dụng), và không có giới hạn đối với nồng độ axit nucleic thai nhi.

Phương pháp được đề xuất trong sáng chế vượt qua những hạn chế của độ sâu phân tích trình tự, loại dữ liệu, và giới tính thai nhi của dữ liệu được ước tính cho lần thứ nhất có tính phổ biến, không cần lấy mẫu bổ sung và chi phí phân tích trình tự, và có

giá trị ứng dụng cực kỳ cao trong lĩnh vực NIPT.

Theo các phương án của sáng chế, phương pháp nêu trên để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ có thể bao gồm thêm các đặc điểm kỹ thuật sau.

Trong một số phương án của sáng chế, dữ liệu phân tích trình tự thu được bằng cách phân tích trình tự mẫu axit nucleic của máu mẹ, và độ sâu của phân tích trình tự này có thể là 10X, 5X, 1X, 0,5X, 0,2X, hoặc 0,1X. Mẫu axit nucleic của máu mẹ bao gồm thông tin axit nucleic thai nhi và thông tin axit nucleic mẹ, và một phần của thông tin axit nucleic thai nhi có nguồn gốc từ cha mẹ. Do đó, thậm chí dữ liệu phân tích trình tự thu được bằng cách phân tích trình tự mẫu axit nucleic của máu mẹ là dữ liệu phân tích trình tự với độ sâu phân tích trình tự thấp, ví dụ, dữ liệu phân tích trình tự lên đến 10X, lên đến 5X, lên đến 1X, hoặc thậm chí 0,1X, dữ liệu trình tự có thể được phân tích bằng phương pháp được đề xuất trong sáng chế để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi.

Trong một số phương án của sáng chế, dữ liệu phân tích trình tự thu được thông qua công nghệ phân tích trình tự thế hệ thứ hai hoặc công nghệ phân tích trình tự thế hệ thứ ba. Công nghệ phân tích trình tự thế hệ thứ hai cũng được đề cập đến là công nghệ phân tích trình tự công suất cao, mà có thể thu được nhiều trình tự một lần. Ví dụ, axit nucleic có thể được chia nhỏ ngẫu nhiên thành các đoạn nhỏ (khoảng từ 250bp đến 300bp) bằng phương tiện vật lý hoặc hóa học, và sau đó các đoạn phân tử nhỏ này được làm giàu bằng cách xây dựng thư viện và được phân tích trình tự trong máy phân tích trình tự. Máy phân tích trình tự có các vùng trong đó các đoạn này có thể được gắn, và mỗi đoạn có vùng gắn độc lập, sao cho thông tin của tất cả các trình tự ADN được gắn có thể được phát hiện trong một lần. Công nghệ phân tích trình tự thế hệ thứ hai có thể phát hiện số lượng lớn các trình tự trong một lần, nhưng các đoạn này là không bị giới hạn, ví dụ, khoảng từ 250bp đến 300bp, và chi phí là khá cao. Công nghệ phân tích trình tự thế hệ thứ hai được sử dụng thông thường có thể là phương pháp pyrosequencing Roche/454's để phân tích trình tự, hoặc phát hiện phân tích trình tự huỳnh quang Illumina, phát hiện phân tích trình tự huỳnh quang ABI/Solid, hoặc

phát hiện phân tích trình tự DNB MGI, v.v... Công nghệ phân tích trình tự thế hệ thứ ba có thể tạo ra chiều dài phân tích trình tự lên đến khoảng 10KB và không dựa vào khuếch đại PCR. Công nghệ phân tích trình tự thế hệ thứ ba cho phép chiều dài phân tích trình tự lên đến khoảng 10KB và không dựa vào khuếch đại PCR, ví dụ, sử dụng SMRT PacBio hoặc công nghệ phân tích trình tự ADN cực nano một phân tử được phát triển bởi Oxford Nanopore Technologies. Dữ liệu phân tích trình tự của mẫu axit nucleic của máu mẹ, dù thu được bằng công nghệ phân tích trình tự thế hệ thứ hai hoặc công nghệ phân tích trình tự thế hệ thứ ba, hoặc thu được bằng phân tích trình tự kết thúc đơn hoặc phân tích trình tự kết thúc ghép cặp, có thể được phân tích theo phương pháp được đề xuất trong sáng chế để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi.

Trong một số phương án của sáng chế, hệ gen tham chiếu bao gồm ít nhất một vùng nổi mạnh trong hệ gen người. "Vùng nổi mạnh" thay đổi theo kích cỡ và cấu trúc của quần thể nghiên cứu, và thường xác định là vùng trong đó xác suất tổ hợp lịch sử giữa cặp bất kỳ của các vị trí biến đổi là nhỏ hơn 5%. Hệ gen tham chiếu có thể chứa một vùng nổi mạnh, hai vùng nổi mạnh, ba vùng nổi mạnh, hoặc thậm chí nhiều hơn. Nói chung, không tính đến chi phí, các vùng nổi mạnh chứa trong hệ gen tham chiếu càng nhiều, nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ cuối cùng được xác định sau khi căn chỉnh và tính toán chính xác càng cao.

Khi chọn lọc các vùng nổi mạnh, tất cả hoặc một phần các vùng nổi mạnh của quần thể trong hệ gen có thể được tìm thấy, phụ thuộc vào kích cỡ và cấu trúc của quần thể nghiên cứu, và sau đó dựa trên các giới hạn của các vùng nổi mạnh này, các vùng nổi mạnh có kích cỡ thích hợp có thể được chọn lọc là hệ gen tham chiếu. Nói chung, số lượng và tỷ lệ của các vị trí biến đổi của ADN mẹ và ADN bào thai được bao trùm trong vùng nổi mạnh chọn lọc càng lớn, nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ được tính toán sử dụng hệ gen tham chiếu chứa trong vùng nổi mạnh này càng chính xác. Trong một số phương án của sáng chế, chiều dài của vùng nổi mạnh nằm trong khoảng từ 5 mb đến 10 mb, ví dụ, 10 mb, 9 mb, 8 mb, 7 mb, 6 mb, hoặc 5 mb. Chiều dài được liệt kê trên đây của vùng nổi mạnh có thể có sự biến đổi là từ 10% đến 20%,

ví dụ, chiều dài của vùng nối mạnh có thể là 10 mb, 11 mb hoặc 12 mb, 9 mb hoặc 8 mb, v.v... Theo cách này, thông tin có nguồn gốc từ dữ liệu phân tích trình tự người bố có thể được hiệu chỉnh chính xác.

Trong một số phương án của sáng chế, thông tin genotyp thứ nhất được xác định dựa trên số các chỉ số phân tích trình tự hỗ trợ. Khi thông tin genotyp thứ nhất thu được, thông tin genotyp thứ nhất được xác định dựa trên số các chỉ số phân tích trình tự hỗ trợ. Ví dụ, đối với vị trí nhất định, nếu 100 chỉ số phân tích trình tự hỗ trợ bazơ A, 8 chỉ số phân tích trình tự hỗ trợ bazơ G và 20 chỉ số phân tích trình tự hỗ trợ bazơ T, thì bazơ ở vị trí này được xác định là bazơ A. Theo cách này, thông tin genotyp của mỗi vị trí có thể thu được, và thông tin genotyp thứ nhất yêu cầu có thể được xác định bằng cách căn chỉnh với ít nhất một phần của hệ gen tham chiếu.

Trong một số phương án của sáng chế, thông tin genotyp thứ nhất bao gồm ít nhất một trong số SNV hoặc Indel. Thông tin genotyp thứ nhất bao gồm thông tin biến đổi một nucleotit (SNV) và/hoặc thông tin xen vào-xóa bỏ (Indel) đoạn nhỏ, và thông tin axit nucleic bố có thể được phản ánh thông qua sự hiệu chỉnh các thông tin này, nhờ đó thực hiện sự xác định chính xác nồng độ axit nucleic thai nhi.

Trong một số phương án của sáng chế, dữ liệu tham chiếu bao gồm nhiều mẫu thông tin vị trí biến đổi và nhiều mẫu thông tin tần suất biến đổi. Sử dụng dữ liệu chứa nhiều mẫu thông tin vị trí biến đổi và nhiều mẫu thông tin tần suất biến đổi làm dữ liệu tham chiếu, thông tin genotyp thứ nhất có thể được hiệu chỉnh dựa trên mối quan hệ mất cân bằng liên kết, để hiệu chỉnh một số thông tin phân tích trình tự từ bố, và sau đó nồng độ axit nucleic thai nhi được xác định dựa trên sự tương quan giữa thông tin được hiệu chỉnh và nồng độ axit nucleic thai nhi.

Trong một số phương án của sáng chế, sự hiệu chỉnh được thực hiện thông qua IMPUTE2. IMPUTE2, là thuật toán gán, mà thực tế là thuật toán hiệu chỉnh và cạnh tranh genotyp cho các vị trí với dữ liệu xóa hoặc độ chính xác thấp. Ngoài IMPUTE2, phương pháp gán khác có thể cũng được sử dụng để thực hiện hiệu chỉnh vị trí bằng cách sử dụng thông tin LD, như BNEAGLE, PHASE và phần mềm khác.

Trong một số phương án của sáng chế, bước (3) bao gồm thêm: bước (3-1) xác định tỷ lệ khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai; và bước (3-2) xác định nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên tỷ lệ khác biệt thu được trong bước (3-1) và công thức uốn chỉnh xác định trước, công thức uốn chỉnh này được xác định dựa trên nhiều mẫu tham chiếu với nồng độ axit nucleic thai nhi đã biết. Trong mỗi quan hệ giữa nhiều nồng độ axit nucleic thai nhi đã biết và tỷ lệ khác biệt của thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai, các công thức hoặc các mô hình khác nhau, ví dụ, mô hình hồi quy tuyến tính, hoặc mô hình khác mà tích hợp hiệu quả tất cả các thông tin, như mô hình rừng ngẫu nhiên hoặc các mô hình nghiên cứu sâu khác, v.v..., được sử dụng để uốn chỉnh để tương quan nồng độ axit nucleic thai nhi với tỷ lệ khác nhau. Sau khi tính toán tỷ lệ khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai của mẫu axit nucleic từ máu mẹ xác định, nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ này có thể được xác định bằng công thức uốn chỉnh xác định trước. Nghĩa là, trong giai đoạn đầu, một số mẫu có các nồng độ axit nucleic thai nhi đã biết có thể được sử dụng làm bộ uốn chỉnh mà được điều chỉnh với sự trợ giúp của phương pháp được đề xuất bởi sáng chế sử dụng các công thức hoặc các mô hình khác nhau để xác định công thức này; và trong ứng dụng sau đó, nồng độ cfDNA thai nhi của một hoặc nhiều mẫu có thể được dự đoán không cần các mẫu bổ sung có các nồng độ axit nucleic thai nhi đã biết.

Trong một số phương án của sáng chế, thuật ngữ “nhiều” chỉ định ít nhất là 100, ví dụ, 100, 500, 1.000, 5.000, hoặc nhiều hơn. Khi công thức hoặc mô hình được sử dụng để uốn chỉnh, số lượng mẫu tham chiếu càng lớn, công thức uốn chỉnh này càng chính xác, và nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ được đo bằng công thức này càng chính xác. Tất nhiên, quá nhiều mẫu có thể cũng gia tăng chi phí tính toán và chi phí từ chính cỡ mẫu. Khi cả hai chi phí và độ chính xác uốn chỉnh là tối ưu, số lượng các mẫu tham chiếu này có thể nằm trong khoảng từ 5.000 đến 1.0000, ví dụ. 5.000. 6.000. 7.000. 8.000. 9.000. hoặc 10.000. mà không giới hạn ở đây.

Theo khía cạnh thứ hai của sáng chế, sáng chế đề xuất thiết bị để xác định nồng độ axit

nucleic thai nhi trong máu người mẹ. Thiết bị này có thể xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ bằng cách sử dụng chỉ dữ liệu NIPT của huyết tương mẹ không cần sự trợ giúp của dữ liệu khác. Ngoài ra, thiết bị này có thể được áp dụng cho dữ liệu phân tích trình tự có độ sâu siêu thấp. Bên cạnh đó, thiết bị này không có giới hạn đối với loại mẫu, và có thể áp dụng cho cả hai mẫu mang thai nhi bé trai hoặc mẫu mang thai nhi bé gái. Thiết bị này bao gồm: bộ phận căn chỉnh được cấu hình để xác định thông tin genotyp thứ nhất dựa trên sự căn chỉnh giữa dữ liệu phân tích trình tự và ít nhất một phần của hệ gen tham chiếu, trong đó dữ liệu phân tích trình tự được bắt nguồn từ mẫu axit nucleic của máu mẹ; bộ phận hiệu chỉnh được nối với bộ phận căn chỉnh và được cấu hình để hiệu chỉnh thông tin genotyp thứ nhất dựa trên dữ liệu tham chiếu bằng cách sử dụng mối quan hệ mất cân bằng liên kết để thu được thông tin genotyp thứ hai; và bộ phận tính toán được nối với bộ phận căn chỉnh và bộ phận hiệu chỉnh và được cấu hình để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên sự khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai.

Theo các phương án của sáng chế, thiết bị trên để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ có thể có tiếp các đặc điểm kỹ thuật sau. Các đặc điểm kỹ thuật này được đề cập hoặc được bao gồm trong phương pháp nêu trên để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ, và các chức năng của các đặc điểm là tương tự với các chức năng trong phương pháp nêu trên để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ, và sẽ không được mô tả chi tiết ở đây.

Trong một số phương án của sáng chế, trong thiết bị này, dữ liệu phân tích trình tự thu được bằng cách phân tích trình tự mẫu axit nucleic của máu mẹ, và độ sâu của trình tự có thể là 10X, 5X, 1X, 0,5X, 0,2X, hoặc 0,1X. Nghĩa là, thiết bị được đề xuất bởi sáng chế có thể sử dụng không chỉ dữ liệu phân tích trình tự độ sâu khá cao hoặc độ sâu cao để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ, mà còn dữ liệu phân tích trình tự độ sâu siêu thấp hoặc phân tích trình tự độ sâu thấp để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ.

Trong một số phương án của sáng chế, trong thiết bị này, dữ liệu phân tích trình tự thu

được bằng phương tiện của công nghệ phân tích trình tự thể hệ thứ hai hoặc công nghệ phân tích trình tự thể hệ thứ ba.

Trong một số phương án của sáng chế, trong thiết bị này, hệ gen tham chiếu bao gồm ít nhất một vùng nổi mạnh trong hệ gen người.

Trong một số phương án của sáng chế, trong thiết bị này, chiều dài của vùng nổi mạnh nằm trong khoảng từ 5mb đến 10mb, ví dụ, 10mb, 9mb, 8mb, 7mb, 6mb, hoặc 5mb. Chiều dài của vùng nổi mạnh không bị giới hạn cụ thể trong sáng chế này.

Trong một số phương án của sáng chế, trong thiết bị này, thông tin genotyp thứ nhất được xác định dựa trên số các chỉ số phân tích trình tự hỗ trợ.

Trong một số phương án của sáng chế, trong thiết bị này, thông tin genotyp thứ nhất bao gồm ít nhất một trong số SNV hoặc Indel.

Trong một số phương án của sáng chế, trong thiết bị này, dữ liệu tham chiếu bao gồm nhiều mẫu thông tin vị trí biến đổi và nhiều mẫu thông tin tần suất biến đổi.

Trong một số phương án của sáng chế, trong thiết bị này, sự hiệu chỉnh được thực hiện thông qua IMPUTE2.

Trong một số phương án của sáng chế, bộ phận tính toán bao gồm thêm: bộ phận tính toán tỷ lệ khác biệt được cấu hình để xác định tỷ lệ khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai; và bộ phận tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi được nối với bộ phận tính toán tỷ lệ khác biệt. Bộ phận tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi được cấu hình để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên tỷ lệ khác biệt thu được trong bộ phận tính toán tỷ lệ khác biệt và công thức uốn chỉnh được xác định trước. Công thức uốn chỉnh được xác định dựa trên nhiều mẫu tham chiếu với các nồng độ axit nucleic thai nhi đã biết.

Trong một số phương án của sáng chế, thuật ngữ “nhiều” có thể chỉ định từ 5.000 đến 10.000, ví dụ, 5.000, 6.000, 7.000, 8.000, 9.000, hoặc 10.000. Số lượng mẫu không bị giới hạn cụ thể ở đây.

Theo phương án thứ ba của sáng chế, sáng chế đề xuất thiết bị máy tính, bao gồm bộ nhớ, bộ xử lý, và chương trình máy tính được lưu trữ trên bộ nhớ này và được thực hiện trên bộ xử lý. Chương trình này, khi được thực hiện bởi bộ xử lý, thực hiện phương pháp theo một bất kỳ trong số các phương án của khía cạnh thứ nhất của sáng chế. Do đó, chỉ cần dữ liệu NIPT của huyết tương mẹ, và nồng độ axit nucleic thai nhi có thể được xác định nhanh chóng với sự trợ giúp của mối quan hệ mất cân bằng liên kết, và nó có thể được áp dụng cho dữ liệu phân tích trình tự độ sâu thấp, là không đặc hiệu với nồng độ axit nucleic thai nhi và loại mẫu.

Theo khía cạnh thứ tư của sáng chế, sáng chế đề xuất vật ghi lưu trữ có thể đọc được bằng máy tính có chương trình máy tính được lưu trữ trên đó. Chương trình này, khi được thực hiện bằng bộ xử lý, thực hiện phương pháp theo một bất kỳ trong số các phương án của khía cạnh thứ nhất của sáng chế. Do đó, chỉ cần dữ liệu NIPT của huyết tương mẹ, và nồng độ axit nucleic thai nhi có thể được xác định nhanh chóng với sự trợ giúp của mối quan hệ mất cân bằng liên kết, và nó có thể được áp dụng cho dữ liệu phân tích trình tự độ sâu thấp, không đặc hiệu với nồng độ axit nucleic thai nhi và loại mẫu.

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

FIG. 1 là sơ đồ cấu trúc của thiết bị để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu người mẹ theo phương án của sáng chế.

FIG. 2 là sơ đồ cấu trúc của bộ phận tính toán trong thiết bị để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu người mẹ theo phương án của sáng chế.

FIG. 3 là sơ đồ về phương pháp để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi thông qua dự đoán mô hình theo phương án của sáng chế.

FIG. 4 là đồ thị minh họa các kết quả dự đoán về các nồng độ axit nucleic thai nhi của bộ dữ liệu thử nghiệm 1000 mẫu theo mô hình thu được bằng cách sử dụng 10.000 mẫu làm bộ uốn chỉnh theo phương án của sáng chế.

FIG. 5 là đồ thị minh họa các kết quả dự đoán về các nồng độ axit nucleic thai nhi của bộ dữ liệu thử nghiệm 1000 mẫu theo mô hình thu được bằng cách sử dụng 10.000 mẫu làm bộ uốn chỉnh theo phương án của sáng chế.

Mô tả các phương án của sáng chế

Các phương án của sáng chế được mô tả chi tiết dưới đây. Các ví dụ về các phương án được minh họa trong các hình vẽ đi kèm mặc dù dấu hiệu tham chiếu giống hoặc tương tự chỉ các phần tử giống hoặc tương tự hoặc các phần tử có chức năng giống hoặc tương tự. Các phương án được mô tả dưới đây tham chiếu đến các hình vẽ đi kèm là minh họa và nhằm để giải thích sáng chế, nhưng không được hiểu là làm giới hạn sáng chế.

Trong khi đó, để dễ dàng hiểu các kiến thức trong ngành, một số thuật ngữ của sáng chế được giải thích và mô tả. Nên được lưu ý rằng các giải thích và các mô tả này chỉ nhằm để giúp hiểu các giải pháp kỹ thuật của sáng chế, nhưng không nên được hiểu là làm giới hạn phạm vi bảo hộ của sáng chế.

Ở đây, các thuật ngữ “thông tin genotyp thứ nhất” và “thông tin genotyp thứ hai” đề cập đến thông tin chứa genotyp của mỗi vị trí, và là genotyp ban đầu thu được từ dữ liệu phân tích trình tự và genotyp sau khi hiệu chỉnh sử dụng thông tin mất cân bằng liên kết, tương ứng.

Thuật ngữ "liên kết" được sử dụng để mô tả mối quan hệ giữa hai vị trí. Nếu khoảng cách giữa hai hoặc nhiều vị trí là tương đối nhỏ, có xác suất nhỏ mà sự giao nhau xảy ra trong khi trong quá trình giảm phân và các alen trên hai vị trí của nhiễm sắc thể giống nhau được tách ra. Nghĩa là, các alen ở hai vị trí này không độc lập khi được truyền cho thế hệ tiếp theo, ví dụ, các alen ở hai vị trí này có xu hướng được di qua trên đó cùng nhau, hiện tượng này được đề cập đến là liên kết. “Vùng nổi mạnh” có thể thay đổi theo kích cỡ và cấu trúc của quần thể nghiên cứu, và thường xác định là vùng trong đó xác suất tổ hợp lịch sử xảy ra giữa cặp bất kỳ của các vị trí biến đổi là nhỏ hơn 5%.

Mất cân bằng liên kết đề cập đến tình huống mà xác suất kết hợp genotyp nhất định của hai vị trí biến đổi được thừa hưởng ở cùng thời điểm là lớn hơn xác suất ngẫu nhiên. Nghĩa là miễn là sự kết hợp genotype nhất định của hai vị trí không được thừa hưởng hoàn toàn một cách độc lập, mất cân bằng liên kết tồn tại giữa hai vị trí này.

Theo khía cạnh thứ nhất của sáng chế, sáng chế đề xuất phương pháp để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu người mẹ. Phương pháp này bao gồm: (1) xác định thông tin genotyp thứ nhất dựa trên sự căn chỉnh dữ liệu phân tích trình tự với ít nhất một phần hệ gen tham chiếu, trong đó dữ liệu phân tích trình tự được bắt nguồn từ mẫu axit nucleic của máu mẹ; (2) hiệu chỉnh thông tin genotyp thứ nhất dựa trên dữ liệu tham chiếu bằng cách sử dụng mối quan hệ mất cân bằng liên kết, để thu được thông tin genotyp thứ hai; và (3) xác định nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên sự khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai. Với phương pháp được đề xuất bởi sáng chế, nồng độ ADN thai nhi trong máu mẹ có thể được phát hiện và xác định.

Khi mối quan hệ mất cân bằng liên kết được sử dụng để hiệu chỉnh, sự hiệu chỉnh có thể được thực hiện dựa trên các phương pháp hoặc phần mềm hiện có. Ví dụ, sự hiệu chỉnh hoặc sự sửa lại có thể được thực hiện bằng phương pháp gán. Gán là phương pháp hoàn thành genotyp và hiệu chỉnh các vị trí có dữ liệu xóa hoặc độ chính xác thấp. Cụ thể là, mối quan hệ mất cân bằng liên kết (LD) giữa vị trí được phân tích và các vị trí gần với nó có độ chính xác cao hơn được sử dụng để tìm kiếm haplotyp mà so khớp tốt nhất với vị trí được phân tích (bằng cách sử dụng thông tin haplotyp trong quần thể tham chiếu, hoặc sử dụng thông tin haplotyp trong số các cá thể khác nhau của quần thể được phân tích), để suy ra genotyp xóa ở vị trí phân tích hoặc hiệu chỉnh genotyp độ chính xác thấp.

Phương pháp gán chủ yếu áp dụng trong nghiên cứu liên quan độ rộng hệ gen (genome wide association study-GWAS) hoặc phân tích di truyền quần thể. Thông tin LD được sử dụng để khuếch đại số các vị trí dữ liệu trên chip, để đào thông tin genotyp liên quan đến phenotyp cụ thể đến mức tối đa. Theo cách khác, đối với dữ liệu phân tích

trình tự độ sâu thấp, thông tin haplotyp của quần thể tham chiếu hoặc của quần thể được phân tích được sử dụng để hiệu chỉnh vị trí genotyp mà được phát hiện sai do độ sâu quá thấp, nhờ đó cải thiện độ chính xác của phân tích.

Trong sáng chế này, nguyên tắc hiệu chỉnh các vị trí độ sâu thấp trong mẫu phân tích sử dụng thông tin haplotyp trong phép gán được áp dụng cho dữ liệu huyết tương mẹ, và thông tin LD được sử dụng để ước tính toàn diện nồng độ axit nucleic thai nhi của toàn bộ hệ gen (hoặc mức nhiễm sắc thể). Khi thực hiện gán trên một mẫu, các thuật toán suy luận kiểu gen như IMPUTE2 có tiền đề giống nhau mà mẫu phân tích là lưỡng bội. Do đó, khi genotyp mà mâu thuẫn với tiền đề này (nghĩa là, nhiều hơn hai haplotyp) có mặt ở một số vị trí, các vị trí này sẽ được xem là các vị trí lỗi và sẽ được hiệu chỉnh. Vì huyết tương mẹ thực tế chứa thông tin về ba loại thông tin haplotyp, nghĩa là, hai haplotyp mẹ và một haplotyp thai nhi được thừa hưởng từ bố, có xác suất nhất định mà haplotyp thai nhi có nguồn gốc từ bố được coi là vị trí lỗi và do đó được hiệu chỉnh trong quá trình gán. Xác suất được hiệu chỉnh này được tương quan tiếp với nồng độ cfDNA thai nhi trong huyết tương mẹ.

Sử dụng thông tin về haplotyp và mất cân bằng liên kết trong hệ gen của phụ nữ mang thai, bằng cách ứng dụng thông tin haplotyp trong gán, nồng độ axit nucleic thai nhi trong thử nghiệm di truyền tiền sản không xâm lấn có thể được tính toán dựa trên tỷ lệ của các vị trí được hiệu chỉnh bởi gán này.

Khi căn chỉnh dữ liệu phân tích trình tự với ít nhất một phần của hệ gen tham chiếu, vùng hệ gen với tín hiệu rõ ràng hơn có thể được chọn lọc là vùng căn chỉnh. Vùng hệ gen với tín hiệu rõ ràng hơn được đề cập có thể được phản ánh là vùng có sự bao trùm tốt hơn (sự bao trùm của dữ liệu phân tích trình tự trên hệ gen), tần suất alen nhỏ tương đối cao (cho thấy rằng vị trí có xác suất biến đổi cao trong quần thể), và tỷ lệ khá cao của các vị trí biến đổi, cho mục đích lấy tiếp thông tin đặc trưng và khử nhiễu âm nền, nhờ đó cải thiện độ chính xác của sự ước tính nồng độ axit nucleic thai nhi.

Khi chọn vùng nổi mạnh, vùng nổi mạnh có thể được xác định bằng cách thay đổi kích cỡ cửa sổ tính toán, ví dụ, thay đổi cửa sổ 5mb thành cửa sổ 10mb hoặc thành cửa sổ

toàn bộ nhiễm sắc thể, để cải thiện độ chính xác bằng cách gia tăng số lượng các vị trí hiệu quả trong mỗi cửa sổ.

Trong một số phương án của sáng chế, bước (3) bao gồm thêm: bước (3-1) xác định tỷ lệ khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai; và bước (3-2) xác định nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên tỷ lệ khác biệt thu được trong bước (3-1) và công thức uốn chỉnh xác định trước, trong đó công thức uốn chỉnh này được xác định dựa trên nhiều mẫu tham chiếu với các nồng độ axit nucleic thai nhi đã biết. Về mối quan hệ giữa các nồng độ axit nucleic thai nhi đã biết và tỷ lệ khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai, các công thức hoặc các mô hình khác nhau, ví dụ, mô hình hồi quy tuyến tính, hoặc mô hình khác mà tích hợp hiệu quả tất cả các thông tin, như mô hình rừng ngẫu nhiên hoặc mô hình nghiên cứu sâu khác, v.v..., được sử dụng để uốn chỉnh để tương quan nồng độ axit nucleic thai nhi với tỷ lệ khác nhau. Khi tỷ lệ khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai của mẫu axit nucleic từ máu mẹ nhất định được xác định, nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ này có thể được xác định bằng phương tiện có công thức được uốn chỉnh xác định trước.

Khi chọn hoặc xác định mô hình, thông tin phenotyp hoàn chỉnh hơn và bổ sung của phụ nữ mang thai có thể được bổ sung là đồng biến trong mô hình dự đoán, nhờ đó tối ưu mô hình dự đoán và gia tăng độ chính xác của ước tính.

Theo khía cạnh khác của sáng chế, sáng chế đề xuất thiết bị để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu người mẹ. Nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ có thể được xác định bằng thiết bị này, mà chỉ cần sử dụng dữ liệu NIPT của huyết tương mẹ không cần sự trợ giúp của dữ liệu khác. Ngoài ra, thiết bị này có thể được áp dụng cho dữ liệu phân tích trình tự có độ sâu siêu thấp. Bên cạnh đó, thiết bị này không đặc hiệu loại mẫu, và cả hai mẫu liên quan đến thai nhi bé trai và mẫu liên quan đến thai nhi bé gái có thể được sử dụng. Như được minh họa trong FIG. 1, thiết bị này bao gồm: bộ phận căn chỉnh được cấu hình để xác định thông tin genotyp thứ nhất dựa trên sự căn chỉnh giữa dữ liệu phân tích trình tự và ít nhất một phần của hệ gen tham chiếu,

trong đó dữ liệu phân tích trình tự được bắt nguồn từ mẫu axit nucleic của máu mẹ; bộ phận hiệu chỉnh được nối với bộ phận căn chỉnh, bộ phận hiệu chỉnh được cấu hình để hiệu chỉnh thông tin genotyp thứ nhất dựa trên dữ liệu tham chiếu bằng cách sử dụng mối quan hệ mất cân bằng liên kết để thu được thông tin genotyp thứ hai; và bộ phận tính toán được nối với bộ phận căn chỉnh và bộ phận hiệu chỉnh, bộ phận tính toán được cấu hình để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên sự khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai.

Trong ít nhất một số phương án, bộ phận tính toán, như được minh họa trong FIG. 2, bao gồm thêm: bộ phận tính toán tỷ lệ khác biệt được cấu hình để xác định tỷ lệ khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai; và bộ phận tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi được nối với bộ phận tính toán tỷ lệ khác biệt. Bộ phận tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi được cấu hình để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên tỷ lệ khác biệt thu được trong bộ phận tính toán tỷ lệ khác biệt và công thức uốn chỉnh xác định trước. Công thức uốn chỉnh này được xác định dựa trên nhiều mẫu tham chiếu với các nồng độ axit nucleic thai nhi đã biết.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Các giải pháp của sáng chế sẽ được giải thích dưới đây liên quan đến các ví dụ. Chuyên gia trong ngành sẽ hiểu rằng các ví dụ sau chỉ được sử dụng để minh họa sáng chế, và không được xem là làm giới hạn phạm vi của sáng chế. Trong đó các kỹ thuật hoặc các điều kiện cụ thể không được nêu trong các ví dụ, các quy trình này sẽ được thực hiện theo các kỹ thuật hoặc các điều kiện được mô tả trong các tài liệu trong ngành hoặc theo hướng dẫn của sản phẩm. Các chất phản ứng hoặc các thiết bị được sử dụng không chỉ định nhà sản xuất tất cả là sản phẩm thông thường mà sẵn có trên thị trường.

Ví dụ 1

Ví dụ 1 cung cấp phương pháp để tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi trong huyết tương mẹ sử dụng dữ liệu phân tích trình tự cfDNA của huyết tương mẹ làm dữ liệu

đầu vào. Các bước cụ thể là như sau:

(1) Xử lý dữ liệu sơ bộ

Tất cả dữ liệu phân tích trình tự thô (ở dạng fq) của các mẫu được sử dụng cho uốn chỉnh mô hình và dự đoán được căn chỉnh với nhiễm sắc thể tham chiếu người hg38 sử dụng mô hình tương tự trong BWA sau khi kiểm soát chất lượng. Picard được sử dụng để loại bỏ các số đọc trùng lặp trong các kết quả được lập bản đồ và tính toán tỷ lệ trùng lặp. Các kết quả được lập bản đồ được hiệu chỉnh cục bộ sử dụng hàm BQSR hiệu chỉnh giá trị chất lượng bazơ trong thuật toán phát hiện biến thể như GATK. Sự phân phối độ sâu của mỗi mẫu được tính toán sử dụng hàm Depth of Coverage trong thuật toán phát hiện biến thể như GATK. Chế độ phát hiện biến thể quần thể trong thuật toán phát hiện biến thể như GATK được sử dụng để thực hiện sự phát hiện biến thể một nucleotit (SNV) và sự xen vào-xóa bỏ đoạn nhỏ (Indel).

(2) Lấy thông tin genotyp thô

Các kết quả của căn chỉnh BWA và loại bỏ sự trùng lặp Picard (ở dạng bam) trong bước (1) được lấy là đầu vào, và kết quả genotyp (ở dạng vcf) được dựa trên độ sâu của các chỉ số thô là đầu ra thông qua hàm mpileup trong phần mềm samtools. Nghĩa là, hàm pileup trong phần mềm samtools được sử dụng để suy ra genotyp.

(3) Tính toán tỷ lệ của các vị trí được hiệu chỉnh-gán

Toàn bộ hệ gen được chia thành các cửa sổ 5 mb. Mỗi cửa sổ là cho mỗi mẫu được phân tích, và thông tin vị trí biến đổi và thông tin tần suất được sử dụng là dữ liệu tham chiếu quần thể. Thông tin vị trí biến đổi và thông tin tần suất có thể đến từ các cơ sở dữ liệu hiện có (như 1000 hệ gen, cơ sở dữ liệu Hapmap, và cơ sở dữ liệu hệ gen tham chiếu quần thể người khác), hoặc có thể cũng được thu được thông qua sự tính toán bằng cách sử dụng thông tin quần thể của chính dữ liệu đầu vào (nghĩa là, tính toán trực tiếp genotyp và tần suất tương ứng của nó của mỗi locus trong mẫu cần được phân tích). Sự hoàn chỉnh genotyp và sự hiệu chỉnh (gán) được hoàn thành bằng cách sử dụng IMPUTE2 hoặc thuật toán gán genotyp khác, để cuối cùng thu được các kết quả của genotyp của mỗi mẫu (ở

dạng vcf). Với genotyp thu được này và genotyp được suy ra từ thông tin độ sâu các chỉ số thô trong (2), tỷ lệ của các vị trí không nhất quán về genotyp trong hai bộ dữ liệu được tính toán là tỷ lệ của các vị trí được hiệu chỉnh gần. Sự hiệu chỉnh này có thể được thực hiện bằng cách đề cập đến nguyên tắc của Imputation by Porcu, E.; Sanna, S.; Fuchsberger, C.; Fritsche, L.G., Genotype imputation in genome-wide association studies. Curr Protoc Hum Genet. 2013, Chapter 1, Unit 1.25.

Gán là phương pháp hoàn thiện genotyp và hiệu chỉnh các vị trí bằng dữ liệu xóa hoặc độ chính xác thấp. Cụ thể là, mối quan hệ mất cân bằng liên kết (LD) giữa vị trí được phân tích và vị trí gần với nó có độ chính xác cao hơn được sử dụng để tìm kiếm haplotyp mà so khớp nhất với vị trí được phân tích (bằng cách sử dụng thông tin haplotyp trong quần thể tham chiếu, hoặc sử dụng thông tin haplotyp trong số các cá thể khác nhau của quần thể được phân tích), để suy ra genotyp xóa ở vị trí phân tích hoặc hiệu chỉnh genotyp độ chính xác thấp.

Phương pháp gán chủ yếu được áp dụng trong nghiên cứu liên quan độ sâu hệ gen (genome wide association study-GWAS) hoặc phân tích di truyền quần thể. Thông tin LD được sử dụng để khuếch đại số các vị trí dữ liệu trên chip, để đào thông tin genotyp liên quan đến phenotyp cụ thể đến mức tối đa. Theo cách khác, đối với dữ liệu phân tích trình tự độ sâu thấp, thông tin haplotyp của quần thể tham chiếu hoặc của quần thể được phân tích được sử dụng để hiệu chỉnh các vị trí genotyp được phát hiện lỗi do độ sâu quá thấp, nhờ đó cải thiện độ chính xác của phân tích.

Trong sáng chế này, nguyên tắc hiệu chỉnh các vị trí độ sâu thấp trong mẫu phân tích sử dụng thông tin haplotyp trong phép gán được áp dụng cho dữ liệu huyết tương mẹ, và thông tin LD được sử dụng để ước tính toàn diện nồng độ axit nucleic thai nhi của toàn bộ hệ gen (hoặc mức nhiễm sắc thể). Khi thực hiện phép gán trên một mẫu, các thuật toán suy luận kiểu gen như IMPUTE2 có tiên đề giống nhau mà mẫu phân tích là lưỡng bội. Do đó, khi các genotyp mâu thuẫn với tiên đề này (nghĩa là, nhiều hơn hai haplotyp) tồn tại ở một số vị trí, các vị trí này sẽ được xem là các vị trí lỗi và sẽ được hiệu chỉnh. Vì thực tế là huyết tương mẹ chứa thông tin về ba loại haplotyp,

nghĩa là, hai haplotyp mẹ và một haplotyp thai nhi được thừa hưởng từ bố, có xác suất nhất định là haplotyp thai nhi có nguồn gốc từ bố được coi là vị trí lỗi và được hiệu chỉnh trong quá trình gán này. Xác suất được hiệu chỉnh này được tương quan tiếp với nồng độ cfDNA thai nhi trong huyết tương mẹ.

(4) Thiết lập mô hình dự đoán nồng độ axit nucleic thai nhi

Quy trình gán cho dữ liệu phân tích trình tự là quy trình hiệu chỉnh và hoàn thiện genotyp với độ chính xác thấp hoặc locus bị xóa với sự trợ giúp của locus độ chính xác cao gần đó sử dụng thông tin mất cân bằng liên kết giữa các locus khác nhau. Hiện nay, IMPUTE2 hoặc các thuật toán suy luận kiểu gen khác được sử dụng để thực hiện gán trên dữ liệu cfDNA huyết tương mẹ dựa trên giả thiết rằng tất cả dữ liệu phân tích trình tự bắt nguồn từ cá thể giống nhau, nghĩa là, chỉ hai haplotyp. Do đó, trong quy trình gán, haplotype thứ ba bao gồm cfDNA bố trong huyết tương mẹ sẽ được xem là vị trí lỗi và do đó sẽ được hiệu chỉnh. Nếu độ sâu phân tích trình tự là giống nhau (hoặc sau khi hiệu chỉnh độ sâu phân tích trình tự), xác suất của cfDNA bố lấy ra nghĩa là khác biệt với cfDNA bố lấy ra của phụ nữ mang thai gia tăng với sự gia tăng của nồng độ axit nucleic thai nhi, và do đó tỷ lệ của các vị trí được hiệu chỉnh cũng gia tăng (như được minh họa trong FIG. 3).

Như được minh họa trong FIG. 3, khi tỷ lệ cfDNA cha tương ứng với sự gia tăng các nồng độ axit nucleic thai nhi khác nhau, xác suất mà genotyp thô (nghĩa là, genotyp thứ nhất) được suy ra từ sự gia tăng cfDNA bố, và do đó xác suất mà các genotype bố này được hiệu chỉnh thành genotype mẹ thông qua sự gán vào cũng gia tăng. Đó là, tỷ lệ khác biệt giữa genotyp thứ nhất và genotyp thứ hai như được đề cập trên đây được tăng lên. Do đó, nồng độ ADN tự do thai nhi có thể được suy ngược lại bằng cách tính toán sự thay đổi về tỷ lệ của genotyp thứ nhất với genotyp thứ hai. Như được minh họa trong FIG. 3, tỷ lệ của các vị trí được hiệu chỉnh-gán thay đổi với các nồng độ axit nucleic thai nhi khác nhau, cho thấy quy trình hiệu chỉnh suy ra trực tiếp nồng độ cfDNA thai nhi và tỷ lệ thay đổi genotyp.

Dựa trên lý thuyết trên, mô hình hồi quy tuyến tính để dự đoán nồng độ axit nucleic

thai nhi được thiết lập bằng cách sử dụng dữ liệu cfDNA huyết tương mẹ thai nhi bé trai với cỡ mẫu lớn (được đề nghị nhiều hơn 10.000 trường hợp) làm bộ uốn chỉnh, nồng độ axit nucleic thai nhi được tính toán với độ sâu nhiễm sắc thể Y làm bộ đúng (giá trị Y), và tỷ lệ của các vị trí được hiệu chỉnh được tính toán trong (3) trên đây là đồng biến (giá trị X), và bổ sung độ sâu phân tích trình tự trung bình, độ sâu phân tích trình tự cao, và tỷ lệ trùng lặp các mẫu là đồng biến.

Công thức cụ thể của mô hình hồi quy tuyến tính là như dưới đây:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 x_{i1} + \beta_2 x_{i2} + \dots + \beta_n x_{in} + \beta_{cov} x_{icov} + \beta_{gcov} x_{igcov} + \beta_{dup} x_{idup} + \varepsilon_i, \quad i = 1, \dots, p,$$

trong đó y_i là nồng độ axit nucleic thai nhi bé trai được tính toán từ độ sâu nhiễm sắc thể Y tương ứng với mẫu i ; $\{x_{i1} \dots x_{in}\}$ là tỷ lệ của các vị trí được hiệu chỉnh bằng cách gán trong mỗi cửa sổ với tất cả n cửa sổ trong mẫu i ; x_{icov} là độ sâu phân tích trình tự trung bình tương ứng với mẫu i ; x_{igcov} là độ sâu phân tích trình tự của các chỉ số căn chỉnh chất lượng cao tương ứng với mẫu i ; x_{idup} là tỷ lệ trùng lặp tương ứng với mẫu i ; và p là tổng số mẫu trong bộ uốn chỉnh.

(5) Dự đoán nồng độ axit nucleic thai nhi

Cho tất cả các mẫu cfDNA huyết tương mẹ, nồng độ axit nucleic thai nhi được dự đoán với mô hình dự đoán thu được trong (4) trên, sử dụng tỷ lệ của các vị trí được hiệu chỉnh gán, độ sâu phân tích trình tự trung bình, độ sâu phân tích trình tự chất lượng cao và tỷ lệ trùng lặp của mỗi mẫu là đồng biến.

Phương pháp này đã được thử nghiệm sơ bộ trên dữ liệu phân tích trình tự SE (khoảng 0,1x) độ sâu siêu thấp NIPT (khoảng 0,1x). Dữ liệu của 10.000 trường hợp với bào thai bé trai làm bộ uốn chỉnh, và nồng độ axit nucleic thai nhi được ước tính bằng độ sâu nhiễm sắc thể Y làm bộ đúng được sử dụng để uốn chỉnh mô hình hồi quy tuyến tính. Trong khi đó, ba biến, nghĩa là, độ sâu phân tích trình tự trung bình, độ sâu phân

tích trình tự chất lượng cao và tỷ lệ trùng lặp của mỗi mẫu, được sử dụng là đồng biến của mô hình để xây dựng mô hình dự đoán. Sau đó, nồng độ axit nucleic thai nhi của 1.000 mẫu được ước tính độc lập hai lần bằng mô hình dự đoán này, và sự tương quan giữa nồng độ axit nucleic thai nhi ước tính và nồng độ axit nucleic thai nhi thực tế (nồng độ axit nucleic thai nhi được tính toán với độ sâu nhiễm sắc thể Y) là như sau.

FIG. 4 minh họa các kết quả dự đoán của nồng độ axit nucleic thai nhi của bộ dữ liệu thử nghiệm gồm 1000 mẫu (bộ dữ liệu thử nghiệm 1), mà được dự đoán độc lập bằng mô hình thu được sử dụng 10.000 mẫu làm bộ uốn chỉnh. Trong bộ dữ liệu thử nghiệm 1, sự tương quan (R^2) giữa nồng độ axit nucleic thai nhi được tính toán dựa trên độ sâu nhiễm sắc thể Y (hoàn chỉnh) và nồng độ axit nucleic thai nhi được tính toán bằng phương pháp theo sáng chế (tung độ) là 0,7318 (95% mức độ tin cậy: 0,7016-0,7593).

FIG. 5 minh họa các kết quả dự đoán của nồng độ axit nucleic thai nhi của bộ dữ liệu thử nghiệm gồm 1000 mẫu (bộ dữ liệu thử nghiệm 2), mà được dự đoán độc lập bằng mô hình thu được sử dụng 10.000 mẫu làm bộ uốn chỉnh. Trong bộ dữ liệu thử nghiệm 2, sự tương quan (R^2) giữa nồng độ axit nucleic thai nhi được tính toán dựa trên độ sâu nhiễm sắc thể Y (hoàn chỉnh) và nồng độ axit nucleic thai nhi được tính toán bằng phương pháp theo sáng chế (tung độ) là 0,7423 (95% mức độ tin cậy: 0,7131-0,7689).

Dựa trên các kết quả của thử nghiệm Pearson, nồng độ axit nucleic thai nhi được ước tính với một trong hai bộ dữ liệu thử nghiệm là tương quan đáng kể với nồng độ axit nucleic thai nhi thu được với độ sâu nhiễm sắc thể Y (giá trị p là nhỏ hơn $2,2 \times 10^{-16}$).

Các kết quả tương quan hồi quy tuyến tính thu được từ bộ uốn chỉnh gồm 10.000 mẫu có thể tham khảo phần phụ lục. Các giá trị trong phần phụ lục là các kết quả đầu ra chuẩn của mô hình hồi quy tuyến tính trong R. Giá trị ước tính (hệ số) là giá trị được tính toán của hệ số tương ứng với mỗi đồng biến đầu vào, đó là, thông số của mô hình thu được từ bộ uốn chỉnh. Thông số này có thể được sử dụng để dự đoán nồng độ cfDNA thai nhi của mẫu mới bằng cách đưa trực tiếp vào trong mô hình tuyến tính này. Độ lệch chuẩn là sai số tương ứng với giá trị ước tính. Giá trị T và giá trị p là các kết quả thử nghiệm ý nghĩa của các đồng biến tương ứng. Ý nghĩa trong cột cuối cùng là

mức ý nghĩa dựa trên giá trị p . Trong ứng dụng thực tế, chỉ các đồng biến ý nghĩa hơn (như p nhỏ hơn 0,05) có thể được chọn để dự đoán.

Trong bản mô tả của sáng chế, các thuật ngữ "thứ nhất" và "thứ hai" chỉ được sử dụng cho mục đích mô tả, và không thể được hiểu là chỉ định hoặc ngụ ý tầm quan trọng tương đối hoặc hoàn toàn chỉ định số các đặc điểm kỹ thuật chỉ ra. Do đó, các đặc điểm được định nghĩa với "thứ nhất" và "thứ hai" có thể rõ ràng hoặc hoàn toàn bao gồm ít nhất một trong số các đặc điểm. Trong bản mô tả của sáng chế, "nhiều" phương pháp ít nhất hai, như hai, ba, v.v..., trừ khi được chỉ định khác.

Trong bản mô tả, sự mô tả có tham chiếu đến các thuật ngữ "phương án", "một số phương án", "ví dụ", "ví dụ cụ thể", hoặc "một số ví dụ", v.v... nghĩa là đặc điểm, cấu trúc, nguyên liệu hoặc đặc trưng cụ thể được mô tả liên quan đến phương án này hoặc ví dụ được bao gồm trong ít nhất một phương án hoặc ví dụ sáng chế. Trong bản mô tả này, các thuật ngữ trên là minh họa, và không nhất thiết đề cập đến phương án tương tự hoặc ví dụ. Hơn nữa, đặc điểm, cấu trúc, nguyên liệu hoặc đặc trưng cụ thể được mô tả có thể được kết hợp theo phương thức kết hợp trong một hoặc nhiều phương án bất kỳ hoặc các ví dụ. Ngoài ra, chuyên gia trong ngành có thể kết hợp các phương án hoặc các ví dụ khác nhau và các đặc điểm của các phương án hoặc các ví dụ khác nhau được mô tả trong bản mô tả này không mâu thuẫn với nhau.

Mặc dù các phương án của sáng chế được minh họa và được mô tả trên đây, có thể được hiểu rằng phương án nêu trên là minh họa và không nên được hiểu là làm giới hạn sáng chế. Chuyên gia trong ngành có thể tạo ra các sự thay đổi, cải biến, thay thế và biến đổi dựa trên các phương án nêu trên trong phạm vi của sáng chế này.

Phụ lục

Các kết quả mô hình tuyến tính thu được từ sự uốn chỉnh 10.000 mẫu từ phụ nữ mang thai (thai nhi bé trai):

Đồng biến	Giá trị ước tính	Độ lệch chuẩn	Giá trị T	Giá trị p	Ý nghĩa
-----------	------------------	---------------	-----------	-------------	---------

Mức độ		-7,54E-01	8,23E-03	-91,70	2,00E-16	***
Độ sâu phân tích trình tự trung bình		-3,74E-01	1,59E-01	-2,36	1,85E-02	*
Độ sâu phân tích trình tự cao		-6,20E-01	1,75E-01	-3,55	3,89E-04	***
Tỷ lệ trùng lặp		3,13E+00	1,74E-01	18,02	2,00E-16	***
Tỷ lệ của các vị trí genotyp được thay đổi bởi gán (cửa sổ 5Mb)	chr1,1,5000000	5,02E-03	1,67E-03	3,01	2.64E-03	**
	chr1,5000001,10000000	5,01E-03	1,68E-03	2,97	2.95E-03	**
	chr1,10000001,15000000	2,92E-03	1,43E-03	2,04	4.15E-02	*
	chr1,15000001,20000000	5,79E-03	1,86E-03	3,12	1.81E-03	**
	chr1,20000001,25000000	4,50E-03	1,83E-03	2,47	1.37E-02	*
	chr1,25000001,30000000	1,89E-03	1,30E-03	1,46	1.45E-01	
	chr1,30000001,35000000	8,88E-03	2,15E-03	4,13	3.69E-05	***
	chr1,35000001,40000000	3,27E-03	1,62E-03	2,01	4.41E-02	*
	chr1,40000001,45000000	6,21E-03	1,69E-03	3,68	2.33E-04	***
	chr1,45000001,50000000	2,03E-03	1,46E-03	1,39	1.64E-01	
	chr1,50000001,55000000	2,57E-03	1,19E-03	2,15	3.14E-02	*
	chr1,55000001,60000000	7,52E-03	2,28E-03	3,29	9.97E-04	***
	chr1,60000001,65000000	1,11E-03	1,81E-03	0,61	5.40E-01	
	chr1,65000001,70000000	4,92E-03	1,83E-03	2,69	7.07E-03	**
	chr1,70000001,75000000	3,04E-03	1,67E-03	1,82	6.88E-02	.
	chr1,75000001,80000000	4,29E-03	1,81E-03	2,37	1.79E-02	*
	chr1,80000001,85000000	4,38E-03	1,87E-03	2,34	1.93E-02	*
	chr1,85000001,90000000	4,77E-03	1,97E-03	2,42	1.55E-02	*
	chr1,90000001,95000000	1,85E-03	1,70E-03	1,09	2.76E-01	
	chr1,95000001,100000000	5,93E-03	1,90E-03	3,12	1.83E-03	**
	chr1,100000001,105000000	2,48E-03	1,92E-03	1,29	1.97E-01	
	chr1,105000001,110000000	4,59E-03	1,94E-03	2,37	1.76E-02	*
	chr1,110000001,115000000	4,16E-03	1,80E-03	2,31	2.10E-02	*
	chr1,115000001,120000000	1,94E-03	1,88E-03	1,03	3.02E-01	
	chr1,120000001,125000000	1,15E-03	7,02E-04	1,64	1.01E-01	

chr1,140000001,145000000	2,92E-03	1,16E-03	2,51	1.21E-02	*
chr1,145000001,150000000	1,59E-03	9,89E-04	1,61	1.08E-01	
chr1,150000001,155000000	2,91E-03	1,52E-03	1,92	5.55E-02	.
chr1,155000001,160000000	1,31E-03	1,40E-03	0,94	3.50E-01	
chr1,160000001,165000000	5,77E-03	1,84E-03	3,14	1.69E-03	**
chr1,165000001,170000000	3,05E-03	1,80E-03	1,70	8.97E-02	.
chr1,170000001,175000000	1,35E-03	1,82E-03	0,74	4.58E-01	
chr1,175000001,180000000	2,65E-03	1,64E-03	1,62	1.06E-01	
chr1,180000001,185000000	7,05E-03	1,57E-03	4,49	7.21E-06	***
chr1,185000001,190000000	2,41E-03	1,70E-03	1,41	1.57E-01	
chr1,190000001,195000000	2,64E-03	1,99E-03	1,33	1.85E-01	
chr1,195000001,200000000	5,04E-03	1,80E-03	2,80	5.17E-03	**
chr1,200000001,205000000	4,19E-03	1,99E-03	2,10	3.55E-02	*
chr1,205000001,210000000	2,63E-03	1,69E-03	1,56	1.20E-01	
chr1,210000001,215000000	2,02E-03	1,83E-03	1,11	2.68E-01	
chr1,215000001,220000000	5,44E-03	1,98E-03	2,76	5.88E-03	**
chr1,220000001,225000000	5,52E-03	2,02E-03	2,74	6.19E-03	**
chr1,225000001,230000000	1,91E-03	1,54E-03	1,24	2.14E-01	
chr1,230000001,235000000	9,08E-03	1,96E-03	4,64	3.48E-06	***
chr1,235000001,240000000	2,33E-03	1,77E-03	1,32	1.87E-01	
chr1,240000001,245000000	6,15E-03	2,00E-03	3,07	2.15E-03	**
chr1,245000001,250000000	3,55E-03	1,66E-03	2,14	3.21E-02	*
chr10,1,5000000	5,86E-03	2,22E-03	2,63	8.45E-03	**
chr10,5000001,10000000	6,62E-03	2,20E-03	3,01	2.59E-03	**
chr10,10000001,15000000	4,55E-03	1,99E-03	2,28	2.24E-02	*
chr10,15000001,20000000	7,02E-03	2,27E-03	3,10	1.95E-03	**
chr10,20000001,25000000	4,68E-03	1,70E-03	2,75	5.89E-03	**
chr10,25000001,30000000	8,37E-03	2,23E-03	3,76	1.71E-04	***
chr10,30000001,35000000	1,97E-03	1,73E-03	1,14	2.55E-01	

chr10,35000001,40000000	1,40E-03	1,30E-03	1,08	2.82E-01	
chr10,40000001,45000000	3,98E-03	1,57E-03	2,54	1.11E-02	*
chr10,45000001,50000000	2,49E-03	1,47E-03	1,70	8.98E-02	.
chr10,50000001,55000000	8,08E-03	2,08E-03	3,89	1.02E-04	***
chr10,55000001,60000000	5,20E-03	1,75E-03	2,96	3.05E-03	**
chr10,60000001,65000000	4,09E-03	1,82E-03	2,24	2.48E-02	*
chr10,65000001,70000000	8,72E-03	2,23E-03	3,91	9.35E-05	***
chr10,70000001,75000000	4,91E-03	1,63E-03	3,02	2.52E-03	**
chr10,75000001,80000000	3,98E-04	1,54E-03	0,26	7.95E-01	
chr10,80000001,85000000	5,53E-03	1,82E-03	3,05	2.32E-03	**
chr10,85000001,90000000	6,73E-03	1,86E-03	3,63	2.88E-04	***
chr10,90000001,95000000	5,61E-03	1,68E-03	3,34	8.31E-04	***
chr10,95000001,100000000	2,70E-03	1,78E-03	1,51	1.30E-01	
chr10,100000001,105000000	6,30E-03	1,56E-03	4,04	5.37E-05	***
chr10,105000001,110000000	5,86E-03	1,75E-03	3,34	8.36E-04	***
chr10,110000001,115000000	5,34E-03	1,84E-03	2,90	3.78E-03	**
chr10,115000001,120000000	7,68E-03	1,80E-03	4,26	2.07E-05	***
chr10,120000001,125000000	7,16E-04	2,18E-03	0,33	7.43E-01	
chr10,125000001,130000000	4,62E-03	2,21E-03	2,09	3.66E-02	*
chr10,130000001,135000000	9,08E-03	1,97E-03	4,60	4.20E-06	***
chr10,135000001,140000000	3,54E-04	6,53E-04	0,54	5.88E-01	
chr11,1,5000000	5,54E-03	1,79E-03	3,10	1.93E-03	**
chr11,5000001,10000000	4,92E-03	2,11E-03	2,33	2.01E-02	*
chr11,10000001,15000000	5,17E-03	2,10E-03	2,46	1.39E-02	*
chr11,15000001,20000000	2,98E-03	2,09E-03	1,42	1.55E-01	
chr11,20000001,25000000	8,55E-03	2,38E-03	3,59	3.36E-04	***
chr11,25000001,30000000	8,04E-04	1,81E-03	0,44	6.57E-01	
chr11,30000001,35000000	1,96E-03	1,81E-03	1,08	2.78E-01	
chr11,35000001,40000000	2,94E-03	1,71E-03	1,72	8.47E-02	.

chr11,40000001,45000000	6,83E-03	1,95E-03	3,51	4.44E-04	***
chr11,45000001,50000000	1,37E-03	1,32E-03	1,04	3.00E-01	
chr11,50000001,55000000	6,41E-05	7,33E-04	0,09	9.30E-01	
chr11,55000001,60000000	4,50E-05	1,61E-03	0,03	9.78E-01	
chr11,60000001,65000000	1,87E-03	1,48E-03	1,27	2.06E-01	
chr11,65000001,70000000	3,78E-03	1,52E-03	2,49	1.27E-02	*
chr11,70000001,75000000	4,72E-03	1,61E-03	2,94	3.30E-03	**
chr11,75000001,80000000	3,34E-03	1,55E-03	2,16	3.07E-02	*
chr11,80000001,85000000	6,98E-03	1,75E-03	3,98	6.97E-05	***
chr11,85000001,90000000	3,25E-03	1,92E-03	1,70	9.02E-02	.
chr11,90000001,95000000	9,87E-03	1,98E-03	4,98	6.53E-07	***
chr11,95000001,100000000	6,33E-03	2,08E-03	3,04	2.37E-03	**
chr11,100000001,105000000	4,72E-03	2,15E-03	2,19	2.84E-02	*
chr11,105000001,110000000	3,13E-03	1,86E-03	1,68	9.27E-02	.
chr11,110000001,115000000	6,99E-03	2,19E-03	3,20	1.40E-03	**
chr11,115000001,120000000	6,53E-03	1,93E-03	3,39	7.06E-04	***
chr11,120000001,125000000	3,33E-03	1,64E-03	2,04	4.19E-02	*
chr11,125000001,130000000	5,39E-03	1,85E-03	2,92	3.56E-03	**
chr11,130000001,135000000	5,77E-03	1,95E-03	2,95	3.16E-03	**
chr12,1,5000000	1,36E-04	1,74E-03	0,08	9.38E-01	
chr12,5000001,10000000	4,91E-03	1,56E-03	3,15	1.62E-03	**
chr12,10000001,15000000	7,96E-03	1,74E-03	4,57	4.91E-06	***
chr12,15000001,20000000	3,10E-03	1,94E-03	1,60	1.10E-01	
chr12,20000001,25000000	5,03E-03	1,58E-03	3,19	1.45E-03	**
chr12,25000001,30000000	7,96E-03	2,03E-03	3,93	8.62E-05	***
chr12,30000001,35000000	8,51E-03	1,80E-03	4,73	2.28E-06	***
chr12,35000001,40000000	4,54E-04	9,64E-04	0,47	6.38E-01	
chr12,40000001,45000000	3,68E-03	2,02E-03	1,82	6.89E-02	.
chr12,45000001,50000000	4,69E-03	1,89E-03	2,48	1.31E-02	*

chr12,50000001,55000000	3,56E-03	1,65E-03	2,16	3.11E-02	*
chr12,55000001,60000000	2,32E-03	1,48E-03	1,57	1.16E-01	
chr12,60000001,65000000	4,74E-03	1,80E-03	2,64	8.36E-03	**
chr12,65000001,70000000	3,91E-03	1,83E-03	2,14	3.25E-02	*
chr12,70000001,75000000	5,53E-03	1,77E-03	3,13	1.77E-03	**
chr12,75000001,80000000	5,71E-03	1,84E-03	3,10	1.93E-03	**
chr12,80000001,85000000	3,89E-03	2,12E-03	1,84	6.61E-02	.
chr12,85000001,90000000	3,83E-03	1,37E-03	2,80	5.16E-03	**
chr12,90000001,95000000	7,21E-03	1,86E-03	3,87	1.10E-04	***
chr12,95000001,100000000	7,35E-03	2,04E-03	3,60	3.22E-04	***
chr12,100000001,105000000	5,89E-03	1,83E-03	3,22	1.30E-03	**
chr12,105000001,110000000	7,91E-03	2,26E-03	3,51	4.58E-04	***
chr12,110000001,115000000	4,42E-03	1,47E-03	3,00	2.71E-03	**
chr12,115000001,120000000	5,05E-03	1,77E-03	2,86	4.25E-03	**
chr12,120000001,125000000	2,72E-03	1,66E-03	1,64	1.01E-01	
chr12,125000001,130000000	4,91E-03	2,11E-03	2,33	1.98E-02	*
chr12,130000001,135000000	2,03E-03	1,78E-03	1,14	2.53E-01	
chr13,15000001,20000000	1,77E-03	7,66E-04	2,31	2.08E-02	*
chr13,20000001,25000000	1,93E-03	1,96E-03	0,98	3.25E-01	
chr13,25000001,30000000	6,00E-03	2,12E-03	2,83	4.74E-03	**
chr13,30000001,35000000	3,86E-03	2,05E-03	1,88	6.04E-02	.
chr13,35000001,40000000	6,19E-03	1,76E-03	3,51	4.45E-04	***
chr13,40000001,45000000	5,25E-03	2,14E-03	2,46	1.41E-02	*
chr13,45000001,50000000	5,49E-03	1,72E-03	3,18	1.46E-03	**
chr13,50000001,55000000	2,22E-03	1,61E-03	1,38	1.67E-01	
chr13,55000001,60000000	3,72E-04	1,71E-03	0,22	8.28E-01	
chr13,60000001,65000000	5,22E-03	1,52E-03	3,44	5.83E-04	***
chr13,65000001,70000000	7,52E-03	1,98E-03	3,80	1.47E-04	***
chr13,70000001,75000000	5,33E-03	2,00E-03	2,67	7.57E-03	**

chr13,75000001,80000000	3,44E-03	1,76E-03	1,95	5.11E-02	.
chr13,80000001,85000000	6,18E-03	1,91E-03	3,24	1.20E-03	**
chr13,85000001,90000000	2,76E-03	1,87E-03	1,48	1.40E-01	
chr13,90000001,95000000	7,38E-03	2,17E-03	3,40	6.77E-04	***
chr13,95000001,100000000	6,44E-03	1,88E-03	3,43	6.04E-04	***
chr13,100000001,105000000	3,79E-03	2,14E-03	1,77	7.67E-02	.
chr13,105000001,110000000	6,13E-03	2,10E-03	2,92	3.57E-03	**
chr13,110000001,115000000	4,88E-03	1,97E-03	2,48	1.31E-02	*
chr13,115000001,120000000	-7,11E-04	7,62E-04	-0,93	3.51E-01	
chr14,15000001,20000000	-2,20E-03	1,86E-03	-1,19	2.35E-01	
chr14,20000001,25000000	4,89E-03	1,93E-03	2,54	1.12E-02	*
chr14,25000001,30000000	7,32E-03	1,85E-03	3,95	7.88E-05	***
chr14,30000001,35000000	4,06E-03	1,42E-03	2,86	4.28E-03	**
chr14,35000001,40000000	3,74E-03	1,91E-03	1,97	4.94E-02	*
chr14,40000001,45000000	6,82E-03	2,19E-03	3,11	1.85E-03	**
chr14,45000001,50000000	1,93E-03	1,76E-03	1,10	2.73E-01	
chr14,50000001,55000000	1,38E-03	1,86E-03	0,74	4.58E-01	
chr14,55000001,60000000	4,00E-03	1,87E-03	2,14	3.21E-02	*
chr14,60000001,65000000	1,32E-03	1,94E-03	0,68	4.95E-01	
chr14,65000001,70000000	2,30E-03	9,32E-04	2,47	1.36E-02	*
chr14,70000001,75000000	6,41E-03	1,88E-03	3,41	6.53E-04	***
chr14,75000001,80000000	1,00E-03	1,86E-03	0,54	5.90E-01	
chr14,80000001,85000000	3,41E-03	2,06E-03	1,66	9.76E-02	.
chr14,85000001,90000000	-1,14E-03	1,94E-03	-0,59	5.55E-01	
chr14,90000001,95000000	6,69E-03	1,89E-03	3,54	3.98E-04	***
chr14,95000001,100000000	7,98E-03	2,10E-03	3,80	1.43E-04	***
chr14,100000001,105000000	5,43E-03	1,70E-03	3,20	1.40E-03	**
chr14,105000001,110000000	1,50E-03	1,23E-03	1,21	2.25E-01	
chr15,15000001,20000000	NA	NA	NA	NA	

chr15,20000001,25000000	2,53E-03	1,21E-03	2,09	3.70E-02	*
chr15,25000001,30000000	1,23E-03	1,66E-03	0,74	4.58E-01	
chr15,30000001,35000000	3,47E-03	1,67E-03	2,07	3.84E-02	*
chr15,35000001,40000000	7,41E-03	1,89E-03	3,93	8.69E-05	***
chr15,40000001,45000000	-3,36E-04	1,04E-03	-0,32	7.47E-01	
chr15,45000001,50000000	6,54E-04	1,79E-03	0,37	7.15E-01	
chr15,50000001,55000000	4,13E-03	1,92E-03	2,16	3.12E-02	*
chr15,55000001,60000000	-8,54E-04	1,93E-03	-0,44	6.58E-01	
chr15,60000001,65000000	1,32E-03	1,74E-03	0,76	4.48E-01	
chr15,65000001,70000000	5,86E-03	1,54E-03	3,82	1.34E-04	***
chr15,70000001,75000000	3,85E-03	1,66E-03	2,32	2.04E-02	*
chr15,75000001,80000000	3,57E-04	1,68E-03	0,21	8.32E-01	
chr15,80000001,85000000	2,24E-03	1,60E-03	1,40	1.62E-01	
chr15,85000001,90000000	4,59E-03	1,92E-03	2,39	1.67E-02	*
chr15,90000001,95000000	3,22E-03	2,09E-03	1,54	1.24E-01	
chr15,95000001,100000000	7,17E-03	2,03E-03	3,54	4.03E-04	***
chr15,100000001,105000000	2,85E-03	1,35E-03	2,11	3.53E-02	*
chr16,1,5000000	1,45E-03	1,37E-03	1,06	2.88E-01	
chr16,5000001,10000000	3,67E-03	1,71E-03	2,15	3.19E-02	*
chr16,10000001,15000000	-2,33E-04	1,99E-03	-0,12	9.07E-01	
chr16,15000001,20000000	5,25E-04	1,57E-03	0,34	7.37E-01	
chr16,20000001,25000000	4,18E-03	1,53E-03	2,74	6.16E-03	**
chr16,25000001,30000000	2,12E-03	1,38E-03	1,54	1.24E-01	
chr16,30000001,35000000	2,08E-03	9,24E-04	2,25	2.43E-02	*
chr16,35000001,40000000	1,42E-03	1,25E-03	1,14	2.55E-01	
chr16,45000001,50000000	3,86E-03	1,02E-03	3,81	1.43E-04	***
chr16,50000001,55000000	5,06E-03	1,68E-03	3,01	2.61E-03	**
chr16,55000001,60000000	5,44E-03	2,24E-03	2,43	1.52E-02	*
chr16,60000001,65000000	4,81E-03	2,12E-03	2,26	2.36E-02	*

chr16,65000001,70000000	6,22E-04	1,37E-03	0,45	6.51E-01	
chr16,70000001,75000000	6,58E-04	1,51E-03	0,44	6.62E-01	
chr16,75000001,80000000	2,53E-03	2,23E-03	1,14	2.56E-01	
chr16,80000001,85000000	8,61E-03	2,31E-03	3,72	2.01E-04	***
chr16,85000001,90000000	5,99E-03	1,98E-03	3,03	2.46E-03	**
chr16,90000001,95000000	1,18E-03	7,34E-04	1,60	1.09E-01	
chr17,1,5000000	2,81E-03	1,32E-03	2,14	3.27E-02	*
chr17,5000001,10000000	4,40E-03	1,73E-03	2,54	1.11E-02	*
chr17,10000001,15000000	8,25E-03	2,12E-03	3,90	9.67E-05	***
chr17,15000001,20000000	4,41E-03	1,53E-03	2,88	3.98E-03	**
chr17,20000001,25000000	7,11E-04	8,21E-04	0,87	3.86E-01	
chr17,25000001,30000000	3,73E-03	1,33E-03	2,81	4.94E-03	**
chr17,30000001,35000000	6,86E-03	2,06E-03	3,33	8.83E-04	***
chr17,35000001,40000000	4,20E-04	1,59E-03	0,27	7.91E-01	
chr17,40000001,45000000	3,12E-03	1,20E-03	2,60	9.22E-03	**
chr17,45000001,50000000	5,61E-03	1,75E-03	3,21	1.34E-03	**
chr17,50000001,55000000	2,36E-03	1,76E-03	1,34	1.81E-01	
chr17,55000001,60000000	9,93E-04	1,09E-03	0,91	3.61E-01	
chr17,60000001,65000000	3,96E-03	1,27E-03	3,12	1.82E-03	**
chr17,65000001,70000000	3,43E-03	1,77E-03	1,94	5.30E-02	.
chr17,70000001,75000000	5,74E-03	1,56E-03	3,67	2.44E-04	***
chr17,75000001,80000000	5,97E-03	1,63E-03	3,67	2.46E-04	***
chr17,80000001,85000000	2,61E-04	8,99E-04	0,29	7.71E-01	
chr18,1,5000000	6,78E-03	2,18E-03	3,11	1.87E-03	**
chr18,5000001,10000000	6,66E-03	1,91E-03	3,49	4.91E-04	***
chr18,10000001,15000000	1,36E-03	1,92E-03	0,71	4.80E-01	
chr18,15000001,20000000	9,21E-04	7,91E-04	1,17	2.44E-01	
chr18,20000001,25000000	4,15E-03	1,82E-03	2,28	2.27E-02	*
chr18,25000001,30000000	7,12E-03	2,14E-03	3,32	8.98E-04	***

chr18,30000001,35000000	1,49E-03	1,51E-03	0,99	3.23E-01	
chr18,35000001,40000000	2,26E-03	2,04E-03	1,10	2.70E-01	
chr18,40000001,45000000	3,19E-03	2,13E-03	1,50	1.35E-01	
chr18,45000001,50000000	2,66E-03	1,96E-03	1,36	1.74E-01	
chr18,50000001,55000000	5,27E-03	1,75E-03	3,02	2.52E-03	**
chr18,55000001,60000000	4,63E-03	1,77E-03	2,62	8.80E-03	**
chr18,60000001,65000000	5,23E-03	2,05E-03	2,55	1.09E-02	*
chr18,65000001,70000000	9,81E-03	2,14E-03	4,58	4.62E-06	***
chr18,70000001,75000000	6,97E-03	1,99E-03	3,50	4.60E-04	***
chr18,75000001,80000000	3,00E-03	1,85E-03	1,63	1.04E-01	
chr19,1,5000000	7,62E-04	1,15E-03	0,66	5.08E-01	
chr19,5000001,10000000	1,66E-03	1,31E-03	1,26	2.07E-01	
chr19,10000001,15000000	1,39E-03	1,18E-03	1,17	2.41E-01	
chr19,15000001,20000000	4,17E-04	1,62E-03	0,26	7.97E-01	
chr19,20000001,25000000	1,62E-03	1,85E-03	0,88	3.79E-01	
chr19,25000001,30000000	4,56E-03	1,49E-03	3,07	2.15E-03	**
chr19,30000001,35000000	3,81E-03	1,70E-03	2,24	2.54E-02	*
chr19,35000001,40000000	2,83E-03	1,55E-03	1,82	6.81E-02	.
chr19,40000001,45000000	2,83E-03	1,64E-03	1,73	8.45E-02	.
chr19,45000001,50000000	2,13E-03	1,26E-03	1,69	9.06E-02	.
chr19,50000001,55000000	5,36E-03	1,38E-03	3,88	1.04E-04	***
chr19,55000001,60000000	3,63E-03	1,35E-03	2,68	7.28E-03	**
chr2,1,5000000	7,31E-03	2,26E-03	3,24	1.21E-03	**
chr2,5000001,10000000	3,53E-03	1,88E-03	1,88	6.01E-02	.
chr2,10000001,15000000	5,85E-03	1,95E-03	3,00	2.73E-03	**
chr2,15000001,20000000	5,11E-03	1,87E-03	2,73	6.38E-03	**
chr2,20000001,25000000	1,71E-03	1,57E-03	1,09	2.76E-01	
chr2,25000001,30000000	1,57E-03	1,45E-03	1,08	2.81E-01	
chr2,30000001,35000000	5,72E-03	2,03E-03	2,82	4.77E-03	**

chr2,35000001,40000000	3,42E-03	1,88E-03	1,82	6.92E-02	.
chr2,40000001,45000000	5,00E-03	1,97E-03	2,54	1.11E-02	*
chr2,45000001,50000000	3,05E-03	1,98E-03	1,54	1.23E-01	
chr2,50000001,55000000	3,20E-03	2,38E-03	1,35	1.78E-01	
chr2,55000001,60000000	4,58E-03	1,84E-03	2,49	1.29E-02	*
chr2,60000001,65000000	2,01E-03	1,42E-03	1,41	1.59E-01	
chr2,65000001,70000000	3,93E-03	2,15E-03	1,83	6.77E-02	.
chr2,70000001,75000000	1,57E-03	1,80E-03	0,87	3.82E-01	
chr2,75000001,80000000	3,55E-03	2,30E-03	1,54	1.23E-01	
chr2,80000001,85000000	2,60E-03	1,37E-03	1,91	5.65E-02	.
chr2,85000001,90000000	1,46E-03	1,22E-03	1,19	2.33E-01	
chr2,90000001,95000000	-9,40E-04	8,89E-04	-1,06	2.90E-01	
chr2,95000001,100000000	1,38E-03	1,17E-03	1,18	2.40E-01	
chr2,100000001,105000000	5,89E-03	1,77E-03	3,32	8.95E-04	***
chr2,105000001,110000000	4,52E-03	1,76E-03	2,57	1.03E-02	*
chr2,110000001,115000000	2,56E-03	1,64E-03	1,56	1.18E-01	
chr2,115000001,120000000	1,70E-03	1,89E-03	0,90	3.66E-01	
chr2,120000001,125000000	3,10E-03	1,88E-03	1,65	9.95E-02	.
chr2,125000001,130000000	2,90E-03	1,74E-03	1,67	9.59E-02	.
chr2,130000001,135000000	8,91E-03	1,83E-03	4,88	1.09E-06	***
chr2,135000001,140000000	2,73E-03	1,94E-03	1,41	1.59E-01	
chr2,140000001,145000000	5,04E-03	2,16E-03	2,33	1.98E-02	*
chr2,145000001,150000000	1,91E-03	1,51E-03	1,27	2.04E-01	
chr2,150000001,155000000	5,86E-03	1,89E-03	3,11	1.88E-03	**
chr2,155000001,160000000	2,39E-03	1,38E-03	1,74	8.21E-02	.
chr2,160000001,165000000	7,30E-03	1,86E-03	3,93	8.52E-05	***
chr2,165000001,170000000	5,52E-03	2,17E-03	2,54	1.10E-02	*
chr2,170000001,175000000	5,94E-04	1,76E-03	0,34	7.35E-01	
chr2,175000001,180000000	3,65E-03	1,43E-03	2,55	1.07E-02	*

chr2,180000001,185000000	7,15E-03	2,12E-03	3,38	7.36E-04	***
chr2,185000001,190000000	-8,89E-04	1,18E-03	-0,76	4.50E-01	
chr2,190000001,195000000	3,75E-03	1,49E-03	2,52	1.18E-02	*
chr2,195000001,200000000	4,01E-03	1,37E-03	2,92	3.55E-03	**
chr2,200000001,205000000	3,70E-03	1,71E-03	2,17	3.00E-02	*
chr2,205000001,210000000	4,24E-03	1,71E-03	2,48	1.32E-02	*
chr2,210000001,215000000	4,64E-03	1,60E-03	2,90	3.78E-03	**
chr2,215000001,220000000	5,56E-03	1,77E-03	3,14	1.69E-03	**
chr2,220000001,225000000	6,00E-03	2,16E-03	2,78	5.50E-03	**
chr2,225000001,230000000	4,43E-03	2,05E-03	2,16	3.11E-02	*
chr2,230000001,235000000	5,87E-03	2,03E-03	2,89	3.86E-03	**
chr2,235000001,240000000	4,81E-03	1,85E-03	2,60	9.27E-03	**
chr2,240000001,245000000	7,45E-03	1,99E-03	3,75	1.77E-04	***
chr20,1,5000000	5,27E-03	1,77E-03	2,98	2.91E-03	**
chr20,5000001,10000000	3,56E-03	2,00E-03	1,78	7.50E-02	.
chr20,10000001,15000000	2,56E-03	2,04E-03	1,26	2.09E-01	
chr20,15000001,20000000	1,25E-02	2,22E-03	5,64	1.75E-08	***
chr20,20000001,25000000	4,93E-03	1,90E-03	2,60	9.43E-03	**
chr20,25000001,30000000	1,86E-03	7,23E-04	2,57	1.02E-02	*
chr20,30000001,35000000	4,36E-04	1,02E-03	0,43	6.68E-01	
chr20,35000001,40000000	5,15E-03	1,73E-03	2,98	2.92E-03	**
chr20,40000001,45000000	2,46E-03	1,64E-03	1,51	1.32E-01	
chr20,45000001,50000000	7,97E-04	1,72E-03	0,46	6.43E-01	
chr20,50000001,55000000	6,20E-03	1,91E-03	3,24	1.21E-03	**
chr20,55000001,60000000	4,40E-03	1,87E-03	2,35	1.87E-02	*
chr20,60000001,65000000	4,65E-03	1,49E-03	3,13	1.78E-03	**
chr21,5000001,10000000	3,39E-04	1,93E-03	0,18	8.60E-01	
chr21,10000001,15000000	-9,92E-05	7,57E-04	-0,13	8.96E-01	
chr21,15000001,20000000	3,38E-03	1,64E-03	2,06	3.95E-02	*

chr21,20000001,25000000	6,07E-03	2,25E-03	2,70	6.95E-03	**
chr21,25000001,30000000	9,42E-03	2,25E-03	4,18	2.93E-05	***
chr21,30000001,35000000	4,68E-03	1,90E-03	2,46	1.40E-02	*
chr21,35000001,40000000	6,71E-03	1,91E-03	3,53	4.26E-04	***
chr21,40000001,45000000	6,23E-03	2,16E-03	2,89	3.89E-03	**
chr21,45000001,50000000	1,62E-03	1,46E-03	1,11	2.67E-01	
chr22,15000001,20000000	3,69E-03	1,22E-03	3,03	2.45E-03	**
chr22,20000001,25000000	3,71E-03	1,75E-03	2,13	3.33E-02	*
chr22,25000001,30000000	7,19E-03	1,74E-03	4,13	3.74E-05	***
chr22,30000001,35000000	2,43E-03	1,88E-03	1,29	1.97E-01	
chr22,35000001,40000000	4,07E-03	1,57E-03	2,60	9.39E-03	**
chr22,40000001,45000000	3,78E-04	1,64E-03	0,23	8.18E-01	
chr22,45000001,50000000	5,13E-03	2,22E-03	2,31	2.09E-02	*
chr22,50000001,55000000	5,78E-04	9,00E-04	0,64	5.21E-01	
chr3,1,5000000	6,72E-03	1,94E-03	3,46	5.41E-04	***
chr3,5000001,10000000	6,18E-03	2,07E-03	2,98	2.86E-03	**
chr3,10000001,15000000	2,22E-03	2,03E-03	1,10	2.73E-01	
chr3,15000001,20000000	3,82E-03	1,57E-03	2,43	1.51E-02	*
chr3,20000001,25000000	8,03E-03	2,18E-03	3,69	2.28E-04	***
chr3,25000001,30000000	4,62E-03	1,67E-03	2,77	5.65E-03	**
chr3,30000001,35000000	4,70E-03	2,06E-03	2,28	2.29E-02	*
chr3,35000001,40000000	3,65E-03	1,63E-03	2,24	2.50E-02	*
chr3,40000001,45000000	5,35E-03	1,51E-03	3,56	3.79E-04	***
chr3,45000001,50000000	-9,46E-04	1,49E-03	-0,63	5.26E-01	
chr3,50000001,55000000	1,85E-03	1,25E-03	1,48	1.40E-01	
chr3,55000001,60000000	4,99E-03	1,70E-03	2,93	3.39E-03	**
chr3,60000001,65000000	3,05E-03	1,87E-03	1,63	1.03E-01	
chr3,65000001,70000000	-1,37E-04	2,10E-03	-0,07	9.48E-01	
chr3,70000001,75000000	7,90E-03	1,79E-03	4,41	1.04E-05	***

chr3,75000001,80000000	1,38E-03	1,76E-03	0,78	4.33E-01	
chr3,80000001,85000000	2,84E-03	1,79E-03	1,58	1.14E-01	
chr3,85000001,90000000	3,85E-03	1,99E-03	1,93	5.34E-02	.
chr3,90000001,95000000	2,53E-03	1,02E-03	2,48	1.30E-02	*
chr3,95000001,100000000	2,48E-05	1,40E-03	0,02	9.86E-01	
chr3,100000001,105000000	3,39E-03	1,67E-03	2,03	4.25E-02	*
chr3,105000001,110000000	7,39E-04	1,45E-03	0,51	6.09E-01	
chr3,110000001,115000000	-1,28E-03	1,82E-03	-0,71	4.80E-01	
chr3,115000001,120000000	2,15E-03	1,79E-03	1,20	2.29E-01	
chr3,120000001,125000000	3,06E-03	1,96E-03	1,56	1.19E-01	
chr3,125000001,130000000	5,73E-03	1,89E-03	3,03	2.45E-03	**
chr3,130000001,135000000	8,23E-03	2,01E-03	4,09	4.44E-05	***
chr3,135000001,140000000	1,02E-03	1,51E-03	0,67	5.02E-01	
chr3,140000001,145000000	1,98E-03	1,82E-03	1,09	2.78E-01	
chr3,145000001,150000000	5,42E-03	1,97E-03	2,75	5.89E-03	**
chr3,150000001,155000000	7,07E-03	1,83E-03	3,86	1.15E-04	***
chr3,155000001,160000000	-4,33E-04	1,70E-03	-0,26	7.99E-01	
chr3,160000001,165000000	2,18E-03	1,56E-03	1,39	1.64E-01	
chr3,165000001,170000000	5,95E-03	1,56E-03	3,81	1.41E-04	***
chr3,170000001,175000000	4,57E-03	1,90E-03	2,40	1.64E-02	*
chr3,175000001,180000000	2,88E-03	1,76E-03	1,64	1.01E-01	
chr3,180000001,185000000	6,38E-03	1,67E-03	3,81	1.39E-04	***
chr3,185000001,190000000	2,38E-03	1,89E-03	1,26	2.08E-01	
chr3,190000001,195000000	5,90E-03	2,44E-03	2,42	1.57E-02	*
chr3,195000001,200000000	1,51E-03	8,66E-04	1,74	8.19E-02	.
chr4,1,5000000	2,35E-03	1,71E-03	1,38	1.68 E-01	
chr4,5000001,10000000	4,12E-03	1,95E-03	2,12	3.40E-02	*
chr4,10000001,15000000	3,85E-03	1,71E-03	2,25	2.44E-02	*

chr4,15000001,20000000	1,07E-02	2,01E-03	5,33	1.01E-07	***
chr4,20000001,25000000	5,72E-03	2,03E-03	2,82	4.88E-03	**
chr4,25000001,30000000	5,10E-03	1,64E-03	3,12	1.83E-03	**
chr4,30000001,35000000	4,79E-03	1,98E-03	2,42	1.54E-02	*
chr4,35000001,40000000	7,16E-03	2,03E-03	3,52	4.29E-04	***
chr4,40000001,45000000	-1,63E-04	1,69E-03	-0,10	9.23E-01	
chr4,45000001,50000000	6,46E-04	1,65E-03	0,39	6.96E-01	
chr4,50000001,55000000	3,00E-03	1,28E-03	2,35	1.90E-02	*
chr4,55000001,60000000	3,77E-03	1,93E-03	1,95	5.11E-02	.
chr4,60000001,65000000	4,85E-03	2,01E-03	2,41	1.60E-02	*
chr4,65000001,70000000	6,08E-03	1,88E-03	3,24	1.22E-03	**
chr4,70000001,75000000	8,25E-03	2,04E-03	4,05	5.17E-05	***
chr4,75000001,80000000	4,18E-03	2,02E-03	2,07	3.86E-02	*
chr4,80000001,85000000	1,10E-02	2,04E-03	5,39	7.09E-08	***
chr4,85000001,90000000	5,26E-03	1,88E-03	2,79	5.21E-03	**
chr4,90000001,95000000	4,97E-03	2,02E-03	2,46	1.38E-02	*
chr4,95000001,100000000	2,33E-03	1,60E-03	1,46	1.46E-01	
chr4,100000001,105000000	5,41E-03	1,81E-03	2,99	2.82E-03	**
chr4,105000001,110000000	2,92E-03	1,63E-03	1,79	7.40E-02	.
chr4,110000001,115000000	5,26E-03	2,11E-03	2,50	1.24E-02	*
chr4,115000001,120000000	3,91E-03	1,79E-03	2,18	2.94E-02	*
chr4,120000001,125000000	2,02E-03	1,68E-03	1,20	2.30E-01	
chr4,125000001,130000000	2,99E-03	1,81E-03	1,65	9.87E-02	.
chr4,130000001,135000000	1,16E-02	2,22E-03	5,20	1.99E-07	***
chr4,135000001,140000000	7,41E-03	2,04E-03	3,64	2.70E-04	***
chr4,140000001,145000000	5,35E-04	1,56E-03	0,34	7.31E-01	
chr4,145000001,150000000	4,57E-03	1,66E-03	2,75	6.01E-03	**
chr4,150000001,155000000	4,17E-03	1,70E-03	2,46	1.39E-02	*
chr4,155000001,160000000	7,63E-03	1,87E-03	4,09	4.38E-05	***

chr4,160000001,165000000	5,88E-03	2,03E-03	2,90	3.79E-03	**
chr4,165000001,170000000	6,19E-03	1,78E-03	3,47	5.23E-04	***
chr4,170000001,175000000	3,39E-04	1,67E-03	0,20	8.39E-01	
chr4,175000001,180000000	4,00E-03	2,15E-03	1,86	6.33E-02	.
chr4,180000001,185000000	4,39E-03	1,95E-03	2,25	2.42E-02	*
chr4,185000001,190000000	6,26E-03	2,15E-03	2,91	3.61E-03	**
chr4,190000001,195000000	-5,12E-04	9,36E-04	-0,55	5.85E-01	
chr5,1,5000000	1,14E-02	2,22E-03	5,15	2.73E-07	***
chr5,5000001,10000000	7,59E-03	2,43E-03	3,13	1.77E-03	**
chr5,10000001,15000000	2,02E-04	1,62E-03	0,12	9.01E-01	
chr5,15000001,20000000	3,31E-03	1,79E-03	1,85	6.51E-02	.
chr5,20000001,25000000	6,67E-03	2,05E-03	3,25	1.17E-03	**
chr5,25000001,30000000	1,29E-03	1,96E-03	0,66	5.11E-01	
chr5,30000001,35000000	6,66E-03	1,93E-03	3,45	5.69E-04	***
chr5,35000001,40000000	4,37E-03	1,75E-03	2,50	1.25E-02	*
chr5,40000001,45000000	2,31E-03	1,60E-03	1,45	1.48E-01	
chr5,45000001,50000000	-9,63E-04	6,81E-04	-1,42	1.57E-01	
chr5,50000001,55000000	6,90E-04	1,85E-03	0,37	7.10E-01	
chr5,55000001,60000000	-7,50E-04	1,87E-03	-0,40	6.88E-01	
chr5,60000001,65000000	1,87E-03	1,65E-03	1,14	2.55E-01	
chr5,65000001,70000000	7,03E-03	1,69E-03	4,16	3.21E-05	***
chr5,70000001,75000000	8,69E-03	1,92E-03	4,52	6.31E-06	***
chr5,75000001,80000000	6,42E-03	1,94E-03	3,30	9.60E-04	***
chr5,80000001,85000000	1,21E-03	1,49E-03	0,81	4.18E-01	
chr5,85000001,90000000	4,21E-03	1,62E-03	2,59	9.53E-03	**
chr5,90000001,95000000	2,74E-03	1,49E-03	1,84	6.58E-02	.
chr5,95000001,100000000	4,27E-03	1,64E-03	2,60	9.41E-03	**
chr5,100000001,105000000	5,10E-03	1,62E-03	3,15	1.63E-03	**
chr5,105000001,110000000	5,65E-03	1,86E-03	3,04	2.38E-03	**

chr5,110000001,115000000	3,73E-03	1,78E-03	2,09	3.65E-02	*
chr5,115000001,120000000	5,18E-03	1,69E-03	3,07	2.14E-03	**
chr5,120000001,125000000	2,06E-03	1,80E-03	1,15	2.52E-01	
chr5,125000001,130000000	3,15E-03	1,83E-03	1,72	8.56E-02	.
chr5,130000001,135000000	4,19E-03	1,42E-03	2,95	3.20E-03	**
chr5,135000001,140000000	5,65E-03	1,59E-03	3,55	3.85E-04	***
chr5,140000001,145000000	2,54E-03	1,62E-03	1,57	1.17E-01	
chr5,145000001,150000000	2,32E-03	1,87E-03	1,24	2.15E-01	
chr5,150000001,155000000	3,39E-06	1,67E-03	0,00	9.98E-01	
chr5,155000001,160000000	7,75E-04	1,83E-03	0,42	6.72E-01	
chr5,160000001,165000000	1,69E-03	8,53E-04	1,98	4.79E-02	*
chr5,165000001,170000000	1,17E-02	1,35E-03	8,67	<2.2E-16	***
chr5,170000001,175000000	-3,33E-04	1,73E-03	-0,19	8.47E-01	
chr5,175000001,180000000	6,34E-03	1,78E-03	3,56	3.68E-04	***
chr5,180000001,185000000	-6,44E-04	6,80E-04	-0,95	3.43E-01	
chr6,1,5000000	1,02E-02	2,13E-03	4,81	1.56E-06	***
chr6,5000001,10000000	4,50E-03	1,81E-03	2,49	1.29E-02	*
chr6,10000001,15000000	4,39E-03	2,12E-03	2,07	3.86E-02	*
chr6,15000001,20000000	1,33E-03	1,83E-03	0,73	4.65E-01	
chr6,20000001,25000000	8,67E-03	1,93E-03	4,48	7.48E-06	***
chr6,25000001,30000000	1,45E-03	1,27E-03	1,14	2.55E-01	
chr6,30000001,35000000	3,52E-04	9,14E-04	0,39	7.00E-01	
chr6,35000001,40000000	3,85E-03	1,71E-03	2,25	2.43E-02	*
chr6,40000001,45000000	2,84E-03	1,52E-03	1,87	6.18E-02	.
chr6,45000001,50000000	4,83E-03	1,68E-03	2,88	3.98E-03	**
chr6,50000001,55000000	8,47E-03	1,84E-03	4,61	4.00E-06	***
chr6,55000001,60000000	1,79E-03	1,33E-03	1,34	1.79E-01	
chr6,60000001,65000000	1,26E-03	1,31E-03	0,96	3.35E-01	
chr6,65000001,70000000	5,08E-03	1,95E-03	2,61	9.16E-03	**

chr6,70000001,75000000	6,96E-03	1,92E-03	3,63	2.83E-04	***
chr6,75000001,80000000	2,51E-03	1,65E-03	1,52	1.29E-01	
chr6,80000001,85000000	4,90E-03	1,84E-03	2,67	7.62E-03	**
chr6,85000001,90000000	1,40E-03	1,75E-03	0,80	4.23E-01	
chr6,90000001,95000000	4,45E-03	1,92E-03	2,32	2.05E-02	*
chr6,95000001,100000000	3,70E-03	1,88E-03	1,97	4.84E-02	*
chr6,100000001,105000000	5,55E-03	2,25E-03	2,47	1.35E-02	*
chr6,105000001,110000000	4,71E-03	1,62E-03	2,91	3.60E-03	**
chr6,110000001,115000000	6,08E-03	1,88E-03	3,24	1.21E-03	**
chr6,115000001,120000000	6,09E-03	1,75E-03	3,47	5.15E-04	***
chr6,120000001,125000000	5,83E-03	2,19E-03	2,67	7.71E-03	**
chr6,125000001,130000000	-3,38E-04	1,44E-03	-0,23	8.15E-01	
chr6,130000001,135000000	3,42E-03	1,59E-03	2,15	3.15E-02	*
chr6,135000001,140000000	4,77E-03	1,74E-03	2,75	6.05E-03	**
chr6,140000001,145000000	4,00E-03	1,71E-03	2,34	1.96E-02	*
chr6,145000001,150000000	3,83E-03	1,72E-03	2,22	2.62E-02	*
chr6,150000001,155000000	7,47E-03	2,12E-03	3,52	4.30E-04	***
chr6,155000001,160000000	3,49E-03	1,89E-03	1,85	6.43E-02	.
chr6,160000001,165000000	6,15E-03	2,04E-03	3,01	2.60E-03	**
chr6,165000001,170000000	9,41E-03	2,53E-03	3,71	2.05E-04	***
chr6,170000001,175000000	8,84E-04	1,01E-03	0,88	3.79E-01	
chr7,1,5000000	4,05E-03	1,70E-03	2,38	1.74E-02	*
chr7,5000001,10000000	6,39E-03	1,88E-03	3,40	6.71E-04	***
chr7,10000001,15000000	6,23E-03	2,30E-03	2,70	6.91E-03	**
chr7,15000001,20000000	6,13E-03	2,18E-03	2,81	5.00E-03	**
chr7,20000001,25000000	6,75E-03	2,11E-03	3,20	1.38E-03	**
chr7,25000001,30000000	3,42E-03	2,00E-03	1,71	8.71E-02	.
chr7,30000001,35000000	6,75E-03	2,03E-03	3,33	8.63E-04	***
chr7,35000001,40000000	5,02E-03	2,19E-03	2,29	2.19E-02	*

chr7,40000001,45000000	-4,19E-05	1,72E-03	-0,02	9.81E-01	
chr7,45000001,50000000	4,50E-03	2,25E-03	2,00	4.54E-02	*
chr7,50000001,55000000	4,09E-03	2,22E-03	1,84	6.53E-02	.
chr7,55000001,60000000	8,45E-04	1,52E-03	0,56	5.78E-01	
chr7,60000001,65000000	1,51E-03	1,45E-03	1,04	2.98E-01	
chr7,65000001,70000000	4,48E-03	1,73E-03	2,59	9.56E-03	**
chr7,70000001,75000000	2,72E-03	1,53E-03	1,77	7.68E-02	.
chr7,75000001,80000000	4,30E-03	1,83E-03	2,35	1.88E-02	*
chr7,80000001,85000000	1,01E-02	2,15E-03	4,71	2.52E-06	***
chr7,85000001,90000000	5,78E-03	1,88E-03	3,08	2.06E-03	**
chr7,90000001,95000000	3,28E-03	1,79E-03	1,83	6.71E-02	.
chr7,95000001,100000000	1,39E-03	1,81E-03	0,77	4.42E-01	
chr7,100000001,105000000	4,74E-03	1,72E-03	2,75	5.95E-03	**
chr7,105000001,110000000	2,37E-03	1,59E-03	1,48	1.38E-01	
chr7,110000001,115000000	3,46E-03	1,66E-03	2,08	3.76E-02	*
chr7,115000001,120000000	7,42E-04	1,69E-03	0,44	6.60E-01	
chr7,120000001,125000000	5,24E-03	1,84E-03	2,85	4.40E-03	**
chr7,125000001,130000000	5,73E-03	1,61E-03	3,57	3.60E-04	***
chr7,130000001,135000000	4,10E-03	1,60E-03	2,57	1.02E-02	*
chr7,135000001,140000000	4,81E-03	1,58E-03	3,04	2.36E-03	**
chr7,140000001,145000000	2,78E-03	1,54E-03	1,81	7.11E-02	.
chr7,145000001,150000000	2,43E-03	1,66E-03	1,46	1.43E-01	
chr7,150000001,155000000	2,70E-03	2,02E-03	1,33	1.82E-01	
chr7,155000001,160000000	4,52E-03	1,86E-03	2,43	1.50E-02	*
chr8,1,5000000	9,32E-03	3,03E-03	3,08	2.08E-03	**
chr8,5000001,10000000	6,91E-03	2,36E-03	2,93	3.42E-03	**
chr8,10000001,15000000	8,08E-03	2,31E-03	3,50	4.63E-04	***
chr8,15000001,20000000	5,92E-03	2,42E-03	2,45	1.42E-02	*
chr8,20000001,25000000	1,69E-03	2,06E-03	0,82	4.13E-01	

chr8,25000001,30000000	1,03E-02	2,03E-03	5,09	3.70E-07	***
chr8,30000001,35000000	2,37E-03	1,76E-03	1,35	1.76E-01	
chr8,35000001,40000000	3,67E-03	1,65E-03	2,23	2.56E-02	*
chr8,40000001,45000000	3,61E-03	1,43E-03	2,53	1.14E-02	*
chr8,45000001,50000000	4,98E-04	7,88E-04	0,63	5.28E-01	
chr8,50000001,55000000	2,51E-03	1,47E-03	1,71	8.83E-02	.
chr8,55000001,60000000	1,02E-02	2,33E-03	4,37	1.25E-05	***
chr8,60000001,65000000	5,91E-03	2,16E-03	2,73	6.38E-03	**
chr8,65000001,70000000	-7,25E-04	1,82E-03	-0,40	6.91E-01	
chr8,70000001,75000000	4,81E-03	1,99E-03	2,42	1.55E-02	*
chr8,75000001,80000000	3,82E-03	1,80E-03	2,13	3.35E-02	*
chr8,80000001,85000000	5,00E-03	2,07E-03	2,41	1.59E-02	*
chr8,85000001,90000000	4,48E-03	1,53E-03	2,93	3.35E-03	**
chr8,90000001,95000000	6,27E-03	1,72E-03	3,64	2.75E-04	***
chr8,95000001,100000000	3,49E-03	1,83E-03	1,91	5.67E-02	.
chr8,100000001,105000000	3,84E-05	1,36E-03	0,03	9.78E-01	
chr8,105000001,110000000	6,32E-03	1,69E-03	3,74	1.86E-04	***
chr8,110000001,115000000	4,73E-03	1,50E-03	3,16	1.57E-03	**
chr8,115000001,120000000	4,92E-03	1,92E-03	2,57	1.03E-02	*
chr8,120000001,125000000	9,94E-03	1,97E-03	5,04	4.77E-07	***
chr8,125000001,130000000	6,63E-03	1,92E-03	3,46	5.36E-04	***
chr8,130000001,135000000	7,54E-03	2,10E-03	3,60	3.25E-04	***
chr8,135000001,140000000	1,10E-02	2,22E-03	4,95	7.44E-07	***
chr8,140000001,145000000	8,17E-03	2,09E-03	3,91	9.33E-05	***
chr8,145000001,150000000	1,42E-04	8,48E-04	0,17	8.67E-01	
chr9,1,5000000	3,61E-03	2,01E-03	1,80	7.26E-02	.
chr9,5000001,10000000	1,14E-02	2,11E-03	5,37	8.09E-08	***
chr9,10000001,15000000	6,20E-03	1,92E-03	3,22	1.27E-03	**
chr9,15000001,20000000	3,60E-03	1,67E-03	2,16	3.12E-02	*

chr9,20000001,25000000	4,85E-03	1,67E-03	2,90	3.78E-03	**
chr9,25000001,30000000	3,68E-03	1,76E-03	2,09	3.68E-02	*
chr9,30000001,35000000	2,63E-03	1,91E-03	1,38	1.69E-01	
chr9,35000001,40000000	1,93E-05	1,47E-03	0,01	9.90E-01	
chr9,40000001,45000000	-6,96E-04	7,81E-04	-0,89	3.72E-01	
chr9,45000001,50000000	9,09E-04	9,56E-03	0,10	9.24E-01	
chr9,65000001,70000000	1,99E-03	9,65E-04	2,06	3.93E-02	*
chr9,70000001,75000000	3,21E-03	1,76E-03	1,83	6.80E-02	.
chr9,75000001,80000000	2,49E-03	1,51E-03	1,65	9.91E-02	.
chr9,80000001,85000000	3,59E-03	1,76E-03	2,04	4.09E-02	*
chr9,85000001,90000000	9,40E-03	1,89E-03	4,97	6.95E-07	***
chr9,90000001,95000000	6,17E-03	2,14E-03	2,89	3.84E-03	**
chr9,95000001,100000000	6,88E-03	1,90E-03	3,63	2.90E-04	***
chr9,100000001,105000000	2,92E-03	2,07E-03	1,41	1.59E-01	
chr9,105000001,110000000	6,41E-03	1,93E-03	3,33	8.70E-04	***
chr9,110000001,115000000	3,41E-03	2,13E-03	1,60	1.10E-01	
chr9,115000001,120000000	4,65E-03	2,09E-03	2,23	2.60E-02	*
chr9,120000001,125000000	4,33E-03	1,65E-03	2,63	8.62E-03	**
chr9,125000001,130000000	5,95E-03	1,84E-03	3,23	1.25E-03	**
chr9,130000001,135000000	4,60E-03	1,52E-03	3,03	2.48E-03	**
chr9,135000001,140000000	2,24E-03	1,73E-03	1,29	1.97E-01	
chr9,140000001,145000000	9,77E-05	6,93E-04	0,14	8.88E-01	

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Phương pháp để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ, bao gồm:

bước 1 là xác định bằng bộ xử lý thông tin genotyp thứ nhất dựa trên sự căn chỉnh dữ liệu phân tích trình tự với ít nhất một phần hệ gen tham chiếu, trong đó dữ liệu phân tích trình tự được bắt nguồn từ mẫu axit nucleic của máu mẹ;

bước 2 là hiệu chỉnh bằng bộ xử lý thông tin genotyp thứ nhất dựa trên dữ liệu tham chiếu bằng cách sử dụng mối quan hệ mất cân bằng liên kết, để thu được thông tin genotyp thứ hai; và

bước 3 xác định bằng bộ xử lý nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên sự khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai.

2. Phương pháp theo điểm 1, trong đó dữ liệu phân tích trình tự thu được bằng cách phân tích trình tự mẫu axit nucleic của máu mẹ.

3. Phương pháp theo điểm 1, trong đó hệ gen tham chiếu chứa ít nhất một vùng nổi mạnh trong hệ gen người.

4. Phương pháp theo điểm 3, trong đó vùng nổi mạnh có chiều dài nằm trong khoảng từ 5mb đến 10 mb.

5. Phương pháp theo điểm 1, trong đó thông tin genotyp thứ nhất được xác định dựa trên số các chỉ số phân tích trình tự hỗ trợ.

6. Phương pháp theo điểm 1, trong đó thông tin genotyp thứ nhất chứa ít nhất một trong số SNP hoặc Indel.

7. Phương pháp theo điểm 1, trong đó dữ liệu tham chiếu chứa nhiều mẫu thông tin vị trí biến đổi và nhiều mẫu thông tin tần suất biến đổi.

8. Phương pháp theo điểm 1, trong đó sự hiệu chỉnh được thực hiện thông qua

IMPUTE2.

9. Phương pháp theo điểm 1, trong đó bước 3 bao gồm thêm:

bước 3-1 xác định tỷ lệ khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai; và

bước 3-2 xác định nồng độ axit nucleic thai nhi theo tỷ lệ khác biệt thu được trong bước 3-1 và công thức uốn chỉnh sơ bộ, trong đó công thức uốn chỉnh sơ bộ được xác định dựa trên nhiều mẫu uốn chỉnh với các nồng độ axit nucleic thai nhi đã biết.

10. Thiết bị để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi trong máu mẹ, bao gồm:

bộ phận căn chỉnh được cấu hình để xác định thông tin genotyp thứ nhất dựa trên sự căn chỉnh giữa dữ liệu phân tích trình tự và ít nhất một phần của hệ gen tham chiếu, trong đó dữ liệu phân tích trình tự được bắt nguồn từ mẫu axit nucleic của máu mẹ;

bộ phận hiệu chỉnh được nối với bộ phận căn chỉnh và được cấu hình để hiệu chỉnh thông tin genotyp thứ nhất dựa trên dữ liệu tham chiếu bằng cách sử dụng mối quan hệ mất cân bằng liên kết để thu được thông tin genotyp thứ hai; và

bộ phận tính toán được nối với bộ phận căn chỉnh và bộ phận hiệu chỉnh, bộ phận tính toán được cấu hình để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi dựa trên sự khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai.

11. Thiết bị theo điểm 10, trong đó dữ liệu phân tích trình tự thu được bằng cách phân tích trình tự mẫu axit nucleic của máu mẹ, và/hoặc

thông tin genotyp thứ nhất được xác định dựa trên số các chỉ số phân tích trình tự hỗ trợ, và/hoặc

thông tin genotyp thứ nhất chứa ít nhất một trong số SNV hoặc Indel, và/hoặc

dữ liệu tham chiếu chứa nhiều mẫu thông tin vị trí biến đổi và nhiều mẫu thông tin tần suất biến đổi, và/hoặc

sự hiệu chỉnh được thực hiện thông qua IMPUTE2.

12. Thiết bị theo điểm 10, trong đó hệ gen tham chiếu chứa ít nhất một vùng nổi mạnh trong hệ gen người, ưu tiên là, vùng nổi mạnh có chiều dài nằm trong khoảng từ 5mb đến 10 mb.

13. Thiết bị theo điểm 10, trong đó bộ phận tính toán bao gồm thêm:

bộ phận tính toán tỷ lệ khác biệt được cấu hình để xác định tỷ lệ khác biệt giữa thông tin genotyp thứ nhất và thông tin genotyp thứ hai; và

bộ phận tính toán nồng độ axit nucleic thai nhi được nối với bộ phận tính toán tỷ lệ khác biệt và được cấu hình để xác định nồng độ axit nucleic thai nhi theo tỷ lệ khác biệt này thu được trong bộ phận tính toán tỷ lệ khác biệt và công thức uốn chỉnh sơ bộ, trong đó công thức uốn chỉnh sơ bộ này được xác định dựa trên nhiều mẫu uốn chỉnh với các nồng độ axit nucleic thai nhi đã biết.

14. Thiết bị máy tính, bao gồm bộ nhớ, bộ xử lý, và chương trình máy tính được lưu trữ trên bộ nhớ này và được thực hiện trên bộ xử lý,

trong đó chương trình này, khi được thực hiện bởi bộ xử lý, thực hiện phương pháp theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9.

15. Vật ghi lưu trữ có thể đọc được bằng máy tính có chương trình máy tính được lưu trữ trên đó, trong đó chương trình này, khi được thực hiện bằng bộ xử lý thực hiện phương pháp theo một điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9.

1/3

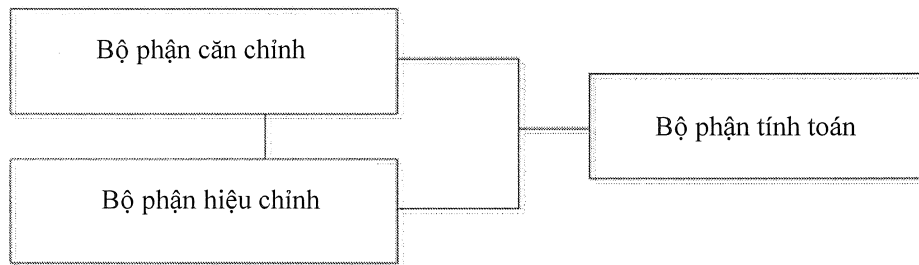


FIG. 1

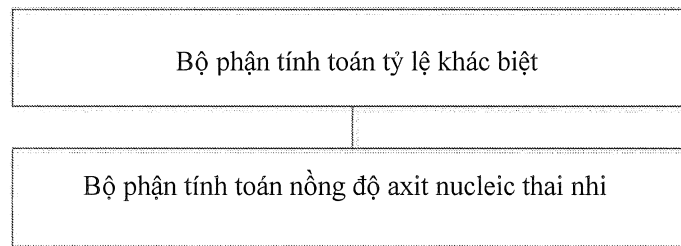
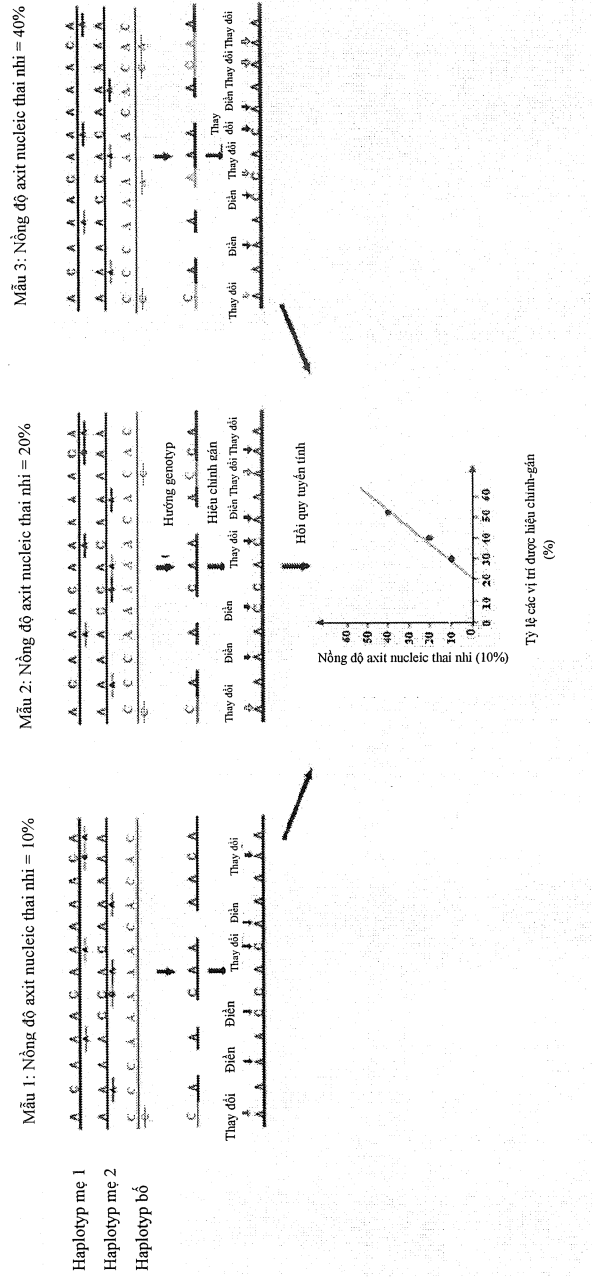


FIG. 2

Haplotyp mē 1
Haplotyp mē 2
Haplotyp bō



3/3

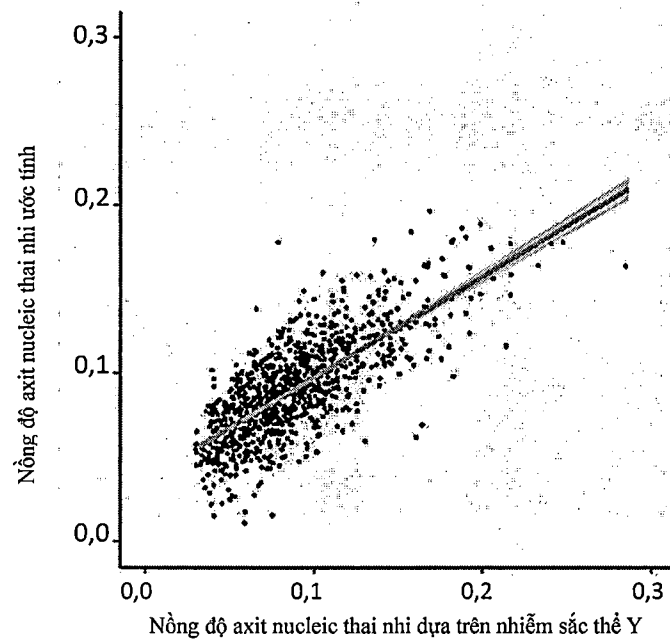


FIG. 4

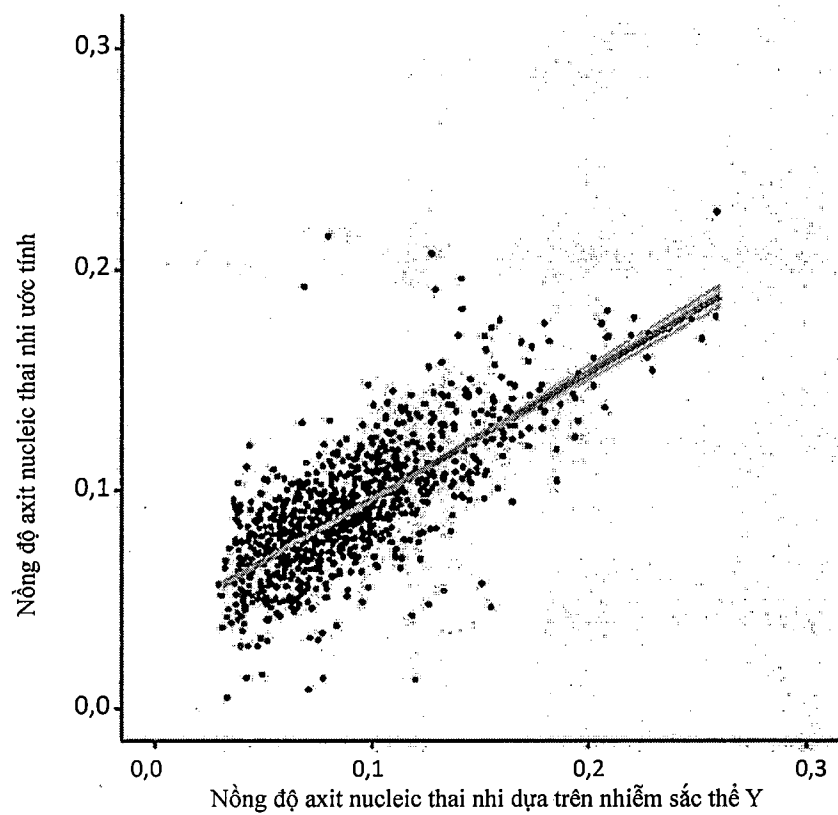


FIG. 5